

Aus der
Klinik für Neurologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lars Timmermann
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Prä- und postprandiale Ghrelinkonzentration bei
Patienten mit Multisystematrophie
und
Progressiver Supranukleärer Blickparese**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt

von
Lea Magdalene Zoche
aus Freiburg im Breisgau
Marburg, 2018

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:

06.04.2018

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Priv.-Doz. Dr. V. Ries

1. Korreferent: Prof. Dr. D. Oliver

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Die Multisystematrophie.....	2
1.1.1	Definition und Epidemiologie	2
1.1.2	Ätiologie und Pathogenese	3
1.1.3	Klinische Präsentation und Diagnose	5
1.1.4	Therapie und Prognose	8
1.2	Progressive Supranukleäre Blickparese.....	8
1.2.1	Definition und Epidemiologie	8
1.2.2	Ätiologie und Pathogenese	9
1.2.3	Klinische Präsentation und Diagnose	10
1.2.4	Therapie und Prognose	13
1.3	Ghrelin.....	14
1.3.1	Struktur und Rezeptor	14
1.3.2	Synthese und Funktion	15
1.4	Zielsetzung.....	17
2	Probanden und Methodik	18
2.1	Probanden	18
2.1.1	Rekrutierung.....	18
2.1.2	Das Probandenkollektiv.....	18
2.1.3	Ein- und Ausschlusskriterien.....	19
2.2	Versuchsdurchführung	20
2.2.1	Untersuchungsablauf	20
2.2.2	Probenverarbeitung und –analyse	21
2.2.3	Geräte- und Materialliste	22
2.2.4	Fragebögen	23

2.3	Zielgrößen und statistische Auswertung	27
3	Ergebnisse.....	28
3.1	Studienkollektiv	28
3.2	Auswertung der Ghrelinkonzentrationen.....	29
3.2.1	Mittelwerte und AUC.....	29
3.2.2	Steigungsverhalten	38
3.2.3	Ghrelinkonzentration: das Geschlecht als möglicher Bias?	40
4	Diskussion.....	41
4.1	Studienkollektiv und Methodik	41
4.2	Ergebnisse.....	45
4.3	Schlussfolgerung und Ausblick.....	48
5	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	50
6	Zusammenfassung – Abstract.....	51
7	Literaturverzeichnis.....	53
8	Anhang	62
8.1	Publikationen.....	62
8.2	Verzeichnis der akademischen Lehrer	63
8.3	Danksagung	64

Abkürzungsverzeichnis

AG	Acyliertes Ghrelin (englisch: acyl-ghrelin)
AUC _I	Area under the curve with respect to the increase
AUC _G	Area under the curve with respect to the ground
BDI	Beck's depression inventory
BMI	Body-Mass-Index
DA	Dopamin
DAG	Desacyliertes Ghrelin (englisch: desacyl-ghrelin)
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (englisch für „Diagnostischer und statistischer Leitfaden psychischer Störungen“)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbant Assay
FAB	Frontal Assessment Battery
G	Erdbeschleunigung
g	Gramm
GOAT	Ghrelin-O-Acyl-Transferase
GCI	glial cytoplasmatic inclusions
HCL	Chlorwasserstoff, Salzsäure
H&Y	Hoehn and Yahr Staging Skala
kcal	Kilokalorien
kDa	Kilodalton
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
MMST	Mini-Mental State Test
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
MSA	Multisystematrophie
MSA-C	Multisystematrophie mit Betonung der cerebellären Symptome
MSA-P	Multisystematrophie mit Betonung des Parkinson-Syndroms
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N	Normalität, entspricht der Äquivalentkonzentration
PANDA	Parkinson Neuropsychometric Dementia Assessment
pg	Pikogramm
PHMB	p-Hydroxymercuribenzoic acid
PSP	Progressive Supranukleäre Blickparese
PSP-PAGF	PSP „with pure akinesia and gait freezing“
PSP-PNFA	PSP mit progressiver, nicht flüssiger Aphasie
PSPRS	Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale
RBD	REM sleep behavior disorder (deutsch: REM-Schlaf-Verhaltensstörung)
RBDSQ	REM Sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire
REM	Rapid Eye Movement
ROS	radikale Sauerstoffspezies
SD	standard deviation (deutsch: Standardabweichung)
SNCA-Gen	Alpha-Synuklein-Gen

SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TPPP	Tubulin-polymerization-promoting-protein
U	Umdrehungen
UMSARS	Unified Multiple System Atrophy Rating Scale
UPDRS	Unified Parkinson's Disease Rating Scale
vs.	versus

1 Einleitung

Ghrelin ist ein vorwiegend vom Magen synthetisiertes Peptidhormon. Unter anderem fördert es die gastrointestinale Motilität, seine Funktionen gehen allerdings weit über diese Eigenschaft hinaus. Im Gehirn beeinflusst es höhere Hirnfunktionen und Regelkreisläufe. Zwei unabhängige Arbeitsgruppen konnten im MPTP-Mausmodell der Parkinsonschen Erkrankung einen neuroprotektiven Effekt von Ghrelin auf nigrale Dopaminzellen nachweisen (Jiang et al., 2008, Andrews et al., 2009).

In einer 2011 veröffentlichten Pilotstudie wurde ein gestörter postprandialer Wiederanstieg von Ghrelin bei Morbus Parkinson gezeigt (Unger et al., 2011b). Für atypische Parkinson-Syndrome, wie die Multisystematrophie oder die Progressive Supranukleäre Blickparese (PSP) fehlt eine solche Analyse. Dies soll die vorliegende Arbeit leisten. Neuropathologisch ist die MSA, wie der Morbus Parkinson, eine Alpha-Synukleinopathie, während die PSP, ähnlich dem Morbus Alzheimer, zu den Tauopathien gerechnet wird. Beide Erkrankungen sind erstmalig in den 1960er Jahren beschrieben worden und haben eine niedrige Prävalenz in der Bevölkerung. Die Kenntnisse zu deren Ätiologie sind noch rudimentär. Hingegen ist beim Morbus Parkinson vor jüngerer Zeit ein pathophysiologisches Modell vorgestellt worden, welches wichtig für die Erfassung der Hintergründe dieser Arbeit ist. Im Folgenden soll daher ein kurzer Einblick über den aktuellen Forschungsstand beim Morbus Parkinson gegeben werden.

Zum Zeitpunkt der klinischen Diagnose eines Morbus Parkinson sind bereits 50-60% der nigrostrialen Neurone degeneriert. Nicht motorische Symptome, wie Hyposmie, REM-Schlaf-Verhaltensstörung (REM sleep behavior disorder, RBD) und gastrointestinale Symptome können Jahre vor der Diagnosestellung auftreten. Zur Erklärung dient das neuropathologische Modell von Braak und Kollegen, die zeigen konnten, dass die typische Pathologie, die Lewy-Körperchen, zentral zuerst im Bulbus olfactorius und im Nucleus dorsalis nervi vagi nachweisbar ist. Sie breitet sich dann rasch vom Vagus Kern nach rostral über den Locus coeruleus, die Substantia nigra bis nach kortikal und nach caudal ins Rückenmark aus (Braak et al., 2003, Del Tredici and Braak, 2012). Sowohl der Bulbus olfactorius, als auch der dorsale Vagus Kern über die Innervation des Gastrointestinaltraktes, stellen eine Verbindung zur Umwelt dar. Sie

könnten folglich die Eintrittspforte eines bis dato unbekannten pathologischen Agens sein. Auch im Gastrointestinaltrakt, im Meissner- und Auerbach-Plexus, lassen sich bei Parkinson Patienten und, wie in Einzelfallberichten auch bei noch nicht Erkrankten beschrieben, Lewy-Körperchen nachweisen (Shannon et al., 2012). Rotenon, ein Pestizid, das über eine Komplex I-Inhibition der Atmungskette wirkt, wird als Initiator eines Parkinson-Syndroms im Tiermodell eingesetzt. Wird es oral appliziert, führt eine Unterbrechung der Verbindung zwischen autonomem Nervensystem und dem ZNS zu einem verzögerten motorischen Symptombeginn, bei allerdings weiterhin früh einsetzenden gastrointestinalen Beschwerden. Diese klinische Beobachtung lässt sich auch neuropathologisch abbilden (Pan-Montojo et al., 2012). Retrospektiv erwies sich auch bei Menschen eine trunkale Vagotomie als protektiv hinsichtlich der Entstehung eines Morbus Parkinson (Svensson et al., 2015). Unumstritten ist die Hypothese des retrograden Transports über den Nervus vagus ins Gehirn jedoch nicht. So lässt sich bei etwa 7-8% der Parkinson Patienten kein Befall des Vaguskerens nachweisen. Auch das von Braak beschriebene Verbreitungsmuster der Pathologie lässt sich bei fast 50% der Fälle nicht nachvollziehen (Attems and Jellinger, 2008, Kalaitzakis et al., 2008).

Der Morbus Parkinson definiert sich über die klinische Symptomatik aus Brady-/Akinesie in Kombination mit Rigor, Ruhetremor oder posturaler Instabilität. In Abgrenzung zum Morbus Parkinson weisen atypische Parkinson-Syndrome zusätzliche klinische Symptome und Zeichen auf (sogenannte Plus-Symptome oder Red-Flags). Zudem sprechen atypische Parkinson-Syndrome nur ungenügend auf eine Therapie mit L-Dopa an. Die PSP und MSA gehören zu den häufigsten atypischen Parkinson-Syndromen.

1.1 Die Multisystematrophie

1.1.1 Definition und Epidemiologie

Die MSA präsentiert sich klinisch mit extrapyramidalen, cerebellären und autonomen Funktionsstörungen in variabler Kombination. Graham und Oppenheim führten 1969 in einem Fallbericht erstmals den Begriff der Multi-Systematrophie ein (Graham and Oppenheimer, 1969).

Papp beschrieb das neuropathologische Korrelat, die oligodendroglialen Einschlusskörperchen, welche zu einem großen Anteil aus unlöslichem aggregiertem Alpha-Synuklein bestehen (Papp et al., 1989, Wakabayashi et al., 1998). Die MSA gehört damit, wie das idiopathische Parkinson Syndrom und die Demenz mit Lewy-Körperchen, zu den Synukleinopathien.

Man unterscheidet zwei klinische Phänotypen der MSA. Bei vorherrschender cerebellärer Symptomatik spricht man von einer MSA-C, bei prädominierendem Parkinson-Syndrom von einer MSA-P. In Europa stellt die Form der MSA-P den größeren Anteil dar mit 58% gegenüber der MSA-C mit 42% (Geser et al., 2006).

Es liegen nur von einer Studie Inzidenz- und Prävalenzdaten der MSA nach den aktuellen zweiten Konsensus-Kriterien vor (Bjornsdottir et al., 2013). Diese Erhebung gibt die Inzidenz der MSA mit 0,6 pro 100 000 Einwohner bezogen auf die europäische Standard-Population der WHO an. Bezieht man die Ergebnisse lediglich auf über 40-Jährige steigt die Inzidenz auf 1,6 pro 100 000 an. Die Prävalenz wird mit 3,4 pro 100 000 Einwohner angegeben. Auch sie steigt in der Bevölkerungsgruppe der über 40-Jährigen auf 7,4 pro 100 000 Einwohner an.

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiologie der MSA ist unbekannt. Sie gilt als sporadische Erkrankung. Trotzdem gibt es Einzelfallberichte einer neuropathologisch gesicherten familiären MSA mit rezessivem und dominantem Erbgang (Hara et al., 2007a, Wullner et al., 2009).

Als wichtiger pathophysiologischer Faktor der Erkrankung wird, wie auch beim Morbus Parkinson Alpha-Synuklein angesehen. Alpha-Synuklein ist ein lösliches Protein, das sich besonders in den präterminalen Nervenendigungen anreichert und an der Signalübertragung der Neurone beteiligt ist (Fellner et al., 2011). Punktmutationen, Duplikationen und Triplikationen im Alpha-Synuklein-Gen (SNCA-Gen) wurden mit autosomal dominant vererbtem Morbus Parkinson in Zusammenhang gebracht (Fellner et al., 2011), wobei Duplikationen und Triplikationen gehäuft zu MSA-ähnlichen Symptomen führen (Fuchs et al., 2007).

Die Fallberichte über familiäre MSA-Erkrankungen konnten keine entsprechenden pathologischen Veränderungen im SNCA-Gen nachweisen (Hara et al., 2007b, Wullner et al., 2009). Wohl aber gibt es Belege für genetische Varianten, so genannte „Single

Nucleotide Polymorphisms“ (SNP) innerhalb des SNCA-Gens, die mit einem erhöhten Risiko für eine MSA assoziiert zu sein scheinen (Scholz et al., 2009, Ross et al., 2010). Eine genomweite Assoziationsstudie konnte dies allerdings nicht bestätigen (Sailer et al., 2016).

Im Vordergrund der Pathogenese der MSA stehen Veränderungen der Oligodendrozyten, die ausgedehnter sind als die Alpha-Synuklein Ablagerungen. Die MSA ist damit eine einzigartige Entität innerhalb der Synukleinopathien.

Ein pathohistologisches Merkmal der MSA sind die überwiegend glialen cytoplasmatischen Einschlusskörperchen (glial cytoplasmatic inclusions, GCI). Beim Morbus Parkinson und der Lewy-Körper-Demenz findet sich das Alpha-Synuklein in Form neuronaler Lewy-Körperchen.

Die Herkunft des Alpha-Synuklein in den GCI ist nach wie vor unklar. Im gesunden Zustand synthetisieren Oligodendrozyten kein Alpha-Synuklein. Ob dies bei MSA-Patienten der Fall ist, konnte bisher nicht abschließend geklärt werden (Miller et al., 2005, Asi et al., 2014).

In einem frühen Stadium der Erkrankung kommt es zu einer Verlagerung des Oligodendrozyten-spezifischen Phosphoproteins p25 α (auch „Tubulin-polymerization-promoting-protein“ (TPPP) genannt) aus der Myelinscheide ins Soma der Zellen. Dies führt zu einem Anschwellen des Soma und einer Dysfunktion des Myelins bis zu einer Demyelinisierung von kleinen Axonen corticospinaler und pontocerebellärer Bahnen (Song et al., 2007). Zudem lagert sich posttranslational modifiziertes Alpha-Synuklein (z.B. Nitrierung, Oxidierung, Phosphorylierung) in betroffenen Oligodendrozyten als GCI ab. p25 α unterstützt diesen Vorgang und ist auch in den GCI enthalten (Kragh et al., 2009).

Alpha-Synuklein könnte dabei von Neuronen an die Umgebung abgegeben werden und von den Oligodendrozyten aufgenommen werden (Kisos et al., 2012). Auch eine direkte Weitergabe von Neuron zu Gliazelle wäre möglich (Reyes et al., 2014). Ein Prion-ähnlicher Neuron-Neuron Transport wird für die Entwicklung eines Morbus Parkinson und anderer Synukleinopathien propagiert (Masuda-Suzukake et al., 2014, Prusiner et al., 2015).

Mikroglia wird zudem durch Alpha-Synuklein aktiviert, was zu einer Vermehrung proinflammatorischer Zytokine führt und ebenfalls zur Neurodegeneration beiträgt

(Su et al., 2008). Auch eine mitochondriale und proteasomale Dysfunktion spielen bei der Entwicklung der MSA eine Rolle, worauf in diesem Rahmen jedoch nicht näher eingegangen werden kann (Jellinger, 2014).

1.1.3 Klinische Präsentation und Diagnose

Die MSA wird meist im sechsten Lebensjahrzehnt klinisch manifest. Ein Krankheitsbeginn vor dem 30. Lebensjahr schließt eine MSA aus. Männer sind etwas häufiger betroffen als Frauen (Wenning et al., 2013).

Als Kardinalsymptom gilt die autonome Dysfunktion in Kombination mit einem ungenügend auf L-Dopa ansprechenden Parkinson-Syndrom oder einer cerebellären Funktionsstörung. Die autonome Dysfunktion wird bei einer ausgeprägten orthostatischen Hypotension (systolischer Blutdruck (RR)-Abfall innerhalb von 3 min nach dem Aufstehen ≥ 30 mmHg bzw. diastolischer RR-Abfall ≥ 15 mmHg), einer erektilen Dysfunktion beim Mann bzw. einer Anorgasmie bei der Frau oder einer Blasenentleerungsstörung diagnostiziert. Das Parkinson-Syndrom bei MSA Patienten ist typischerweise symmetrisch ausgeprägt mit Bradykinesie und Rigor. Der für den Morbus Parkinson klassische Ruhetremor findet sich bei der MSA nur selten. Ein Halte- oder Aktionstremor ist häufiger. Eine cerebelläre Funktionsstörung zeigt sich in einem breitbasigen, ataktischen Gangbild, Augenbewegungsstörungen mit hypermetrischen Sakkaden und Blickrichtungsnystagmus sowie einem Intentionstremor.

Sogenannte „Red flags“ sind Symptome, die auf ein atypisches Parkinson Syndrom wie die MSA hinweisen, für eine Diagnosestellung jedoch nicht ausreichen. Als solche gelten die rasche Progression der Erkrankung, Sexualfunktionsstörungen, wie erektile Dysfunktion, genitale Empfindungsstörungen und Anorgasmie. Ein neu aufgetretenes Raynaud Syndrom, kalte livide Akren oder prätibiale Ödeme passen als Ausdruck einer autonomen Funktionsstörung zu einer MSA.

MSA Patienten entwickeln im Verlauf eine ausgeprägte Dysarthrie und Dysphagie. Sie sprechen häufig langsam und hypophon. Bei MSA-C Patienten besteht hingegen eine cerebelläre Dysarthrie.

Die RBD ist ein wichtiger Indikator für eine Alpha-Synukleinopathie. Bei MSA Patienten beträgt die Prävalenz 88% (Palma et al., 2015). Eine RBD gilt als prämotorisches Symptom des Morbus Parkinson, findet sich aber insgesamt seltener als bei der MSA.

RBD Patienten haben häufig sehr lebhaft, manchmal gewalt- oder angstbesetzte Träume. Typischerweise stellt sich während der Traumphasen, d.h. im REM-Schlaf keine physiologische Muskelatonie ein, so dass die Patienten ihre Träume ausagieren können.

Ein weiteres nicht motorisches Symptom sind gastrointestinale Beschwerden wie frühes Sättigungsgefühl, Oberbauchschmerzen und Obstipation. In klinischen Studien konnte eine verminderte Magenmotilität bei MSA gezeigt werden (Thomaidis et al., 2005). Auch die gastrointestinale Transitzeit ist verlängert (Sakakibara et al., 2004).

Typischerweise kommt es bei MSA Patienten nicht zu einem kognitiven Abbau.

Die im Jahr 2008 revidierten Diagnosekriterien der Konsensus-Konferenz dienen als Grundlage. Nach ihnen wird die Sicherheit, mit der die Diagnose gestellt werden kann, in 3 Grade eingeteilt: Mögliche, wahrscheinliche und definitive MSA (Tab. 1). Die Wahrscheinlichkeit der richtigen Diagnose nach den Konsensuskriterien nimmt mit der Dauer der Erkrankung zu (erste Visite „mögliche MSA“: Sensitivität 41% und positiver prädiktiver Wert 95%, letzte Visite „mögliche MSA“: Sensitivität 92% und positiver prädiktiver Wert 89%; erste Visite „wahrscheinliche MSA“: Sensitivität 18% und positiver prädiktiver Wert 100%, letzte Visite „wahrscheinliche MSA“: Sensitivität 63% und positiver prädiktiver Wert 91%) (Osaki et al., 2009).

Eine definitive Diagnose kann nur post mortem durch eine neuropathologische Untersuchung gestellt werden. Gliale cytoplasmatische Einschlusskörperchen in Oligodendrozyten sind kennzeichnend für die Erkrankung. Es finden sich auch entsprechende Aggregate in den Nuclei der Oligodendrozyten sowie in Cytoplasma und Nuclei von Neuronen. In den Einschlusskörperchen lassen sich immunhistochemisch Alpha-Synuklein, Tau und Ubiquitin nachweisen. Daneben besteht ein neuronaler Zelluntergang mit konsekutiver Gliose. Betroffene Neurone weisen außerdem Schäden an der Myelinscheide sowie am Axon auf (Ahmed et al., 2012). Die Befunde sind in individuell unterschiedlicher Ausprägung in Substantia nigra, Striatum, inferiorer Olive, Pons, Locus coeruleus, Cerebellum, im Cornu laterale des Rückenmarks sowie in Onuf's Nucleus vorhanden (Ahmed et al., 2012). Ein Neuronenverlust im Nucleus dorsalis nervi vagi wurde ebenfalls beschrieben (Benarroch et al., 2006a).

Tab. 1: Diagnosekriterien der MSA nach den zweiten Konsensuskriterien (Gilman et al., 2008)

Voraussetzung: Sporadische, progressive Erkrankung mit Beginn nach dem 30. Lebensjahr		
Mögliche MSA	Wahrscheinliche MSA	Definitive MSA
<p>Autonome Störung, d.h. zumindest eines der folgenden Symptome:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sonst nicht erklärbare Blaseninkontinenz - Unvollständige Blasenentleerung - Erektile Dysfunktion - Signifikanter orthostatischer Blutdruckabfall, der nicht die Kriterien für eine wahrscheinliche MSA erfüllt <p><i>plus</i></p> <p>Parkinson Syndrom <i>oder</i> Cerebelläres Syndrom (Gangataxie mit cerebellärer Dysarthrie, Extremitätenataxie oder cerebellärer Okulomotorikstörung)</p> <p><i>plus</i></p> <p>mindestens ein Zusatzsymptom</p>	<p>Autonome Störung mit Blaseninkontinenz (Unfähigkeit, die Blasenentleerung zu steuern, bei Männern begleitet von erektiler Dysfunktion)</p> <p><i>oder</i></p> <p>Orthostatischer Blutdruckabfall bei dreiminütigem Stehen systolisch ≥ 30 mmHg oder diastolisch ≥ 15 mmHg</p> <p><i>plus</i></p> <p>Parkinson Syndrom <u>mit</u> geringem Ansprechen auf L-Dopa <i>oder</i> Cerebelläres Syndrom (Gangataxie mit cerebellärer Dysarthrie, Extremitäten- ataxie oder cerebellärer Okulomotorikstörung)</p>	<p>Histopathologisch hohe Dichte an Alpha-Synuklein-positiven glialen cytoplasmatischen Einschlüssen</p> <p><i>plus</i></p> <p>Degeneration der nigrostriatalen und olivopontocerebellären Projektionen</p>
Zusatzsymptome für eine mögliche MSA		
Mögliche MSA-P oder MSA-C	<ul style="list-style-type: none"> ■ Babinski Zeichen mit Reflexsteigerung ■ Stridor 	
Mögliche MSA-P	<ul style="list-style-type: none"> ■ Schnell progressives Parkinson-Syndrom ■ Geringes Ansprechen auf L-Dopa ■ Posturale Instabilität in den ersten drei Jahren nach motorischem Krankheitsbeginn ■ Gangataxie, cerebelläre Dysarthrie, Extremitätenataxie oder cerebelläre Okulomotorikstörung ■ Dysphagie in den ersten 5 Jahren nach motorischem Krankheitsbeginn ■ Atrophie von Putamen, mittlerem Kleinhirnstiel, Pons oder Cerebellum im MRT ■ Hypometabolismus im Putamen, Hirnstamm oder Cerebellum im FDG-PET 	
Mögliche MSA-C	<ul style="list-style-type: none"> ■ Parkinson-Syndrom ■ Atrophie von Putamen, mittlerem Kleinhirnstiel oder Pons im MRT ■ Hypometabolismus im Putamen im FDG-PET ■ Präsynaptische striatonigrale dopaminerge Denervierung in SPECT oder PET 	

1.1.4 Therapie und Prognose

Bisher gibt es weder eine heilende noch krankheitsverzögernde Therapie. Eine rezente doppelblinde placebokontrollierte Studie mit der Substanz Rifampicin, von der man sich aus tierexperimentellen Studien den Abbau von Alpha-Synuklein Ablagerungen erhoffte, wurde bei fehlender Wirksamkeit frühzeitig abgebrochen.

Es bleibt der Versuch mit hochdosiertem L-Dopa zur Therapie des Parkinson-Syndroms. Ein Ansprechen auf die Medikation ist jedoch meist unbefriedigend und nimmt im Verlauf der Erkrankung ab. Eine Tiefenhirnstimulation bei MSA Patienten erbringt keinen Benefit (Chou et al., 2004).

Bei ausgeprägter orthostatischer Dysregulation können Stützstrümpfe den venösen Rückfluss aus den Beinen unterstützen. Auch der Einsatz von elastischen Bauchbinden kann versucht werden (Smit et al., 2004). Droxidopa als medikamentöse Unterstützung ist auf dem europäischen Markt noch nicht zugelassen (Kaufmann et al., 2014).

Gegen Obstipation werden stuhlregulierende Maßnahmen eingesetzt. Für die Blasenentleerungsstörungen sind im Verlauf meist Katheterinterventionen nötig.

Zusätzlich erhalten Patienten physio-, ergo- und logotherapeutische Behandlung zum Erhalt der motorischen Fähigkeiten sowie zur Sturz- und Aspirationsprophylaxe. Studien über die Wirksamkeit der Verfahren liegen nicht vor.

Die Erkrankung schreitet rasch voran, meist sind die Patienten nach 5 Jahren rollstuhlgebunden. Als prognostisch ungünstig gelten die Diagnose MSA-P, unvollständige Blasenentleerung und ein frühes Versagen der dopaminergen Therapie. Das mediane Überleben der Patienten nach Beginn der ersten Motorsymptome beträgt 9,8 Jahre (Wenning et al., 2013).

1.2 Progressive Supranukleäre Blickparese

1.2.1 Definition und Epidemiologie

Die Erkrankung wurde erstmals 1964 klinisch und auch neuropathologisch von Steele, Richardson und Olszewski beschrieben (Steele et al., 1964).

Die PSP ist eine progressive, neurodegenerative Erkrankung. Neuropathologisch ist sie durch Ablagerungen hyperphosphorylierter Tau-Proteine gekennzeichnet und wird damit den Tauopathien zugerechnet.

Mittlerweile sieht man die PSP als sehr heterogenes Krankheitsbild an. Neben der klassischen PSP, dem sogenannten Richardson-Syndrom, wurden weitere Varianten beschrieben, wie zum Beispiel die PSP vom Parkinson-Typ, die PSP „with pure akinesia and gait freezing“ (PSP-PAGF) und die PSP mit progressiver, nicht flüssiger Aphasie (PSP-PNFA). Diese Varianten sind selten und eine sichere Diagnose kann erst post mortem gestellt werden. In der vorliegenden Studie wurden daher nur Patienten eingeschlossen, die die Symptome einer PSP nach den gültigen Diagnoserichtlinien von Gilman aus dem Jahre 1996 erfüllten (Tab. 2).

Die PSP ist ein seltenes Krankheitsbild. Die Inzidenz liegt zwischen 0,1-3,3 Fälle pro 100 000 Einwohnern. Betrachtet man die Altersgruppe der über 50-Jährigen steigt die Inzidenz auf 5,3 pro 100.000 an. Die Prävalenz liegt zwischen 1,3-4,9 PSP-Erkrankter pro 100.000 Einwohner (Bower et al., 1997, Colosimo et al., 2013).

1.2.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiopathogenese der Erkrankung gilt als multifaktoriell. In einer großen genomweiten Assoziationsstudie konnten Genvarianten identifiziert werden, die mit einem erhöhten PSP-Risiko assoziiert sind (Höglinger et al., 2011).

Eine zentrale Rolle im Pathomechanismus wird dem Mikrotubuli-assoziierten Tau-Protein zugeschrieben. In den Nervenzellen fördert es die Polymerisation und Stabilität von Mikrotubuli und unterstützt damit die axonale Transportfunktion und Integrität. Eine autosomal dominant vererbte Mutation im Exon 10 des Tau-Proteins bedingt eine PSP-ähnliche Erkrankung. Diese Mutation führt zu einem Überwiegen des Tau-Proteins mit vier Mikrotubuli-Bindestellen (4R Tau), wie es auch bei sporadischen PSP-Patienten beobachtet wird (Stanford et al., 2000).

Bei 90% der PSP Patienten lässt sich der H1-Haplotyp des Tau-Proteins nachweisen. Da auch bis zu 60% der gesunden Kontrollen Träger dieser Genvariante sind, wird diese lediglich als prädestinierend für die Erkrankung angesehen.

Im Verlauf der Pathogenese wird Tau hyperphosphoryliert, was zu einer verminderten Bindungsfähigkeit an die Mikrotubuli mit konsekutiver axonaler Dysfunktion führt. Zudem wird dadurch die Tau-Aggregation gefördert. Diese beiden Mechanismen tragen zur Neurodegeneration bei.

Als eine mögliche Ursache für die Hyperphosphorylierung wird eine mitochondriale Dysfunktion mit vermehrter Bildung von radikalen Sauerstoffspezies (ROS) und reduzierten ATP-Spiegeln angesehen. Auf der Insel Guadeloupe konnte die hohe Prävalenz eines PSP-ähnlichen Krankheitsbildes mit einem Komplex I-Inhibitor, dem Annonacin, in Verbindung gebracht werden (Lannuzel et al., 2007).

1.2.3 Klinische Präsentation und Diagnose

Das mittlere Erkrankungsalter für PSP liegt bei 63 Lebensjahren. Frauen und Männer scheinen etwa gleich häufig betroffen zu sein.

Eine sichere Diagnose kann wie bei allen atypischen Parkinson-Syndromen nur post mortem neuropathologisch gestellt werden.

Die PSP präsentiert sich klinisch als hypokinetisch rigides Parkinson-Syndrom. In Abgrenzung zum Morbus Parkinson ist die Symptomatik im Wesentlichen symmetrisch ausgebildet und Tremor kein typisches Symptom. Der ausgeprägte axiale Rigor kann sich in einer nuchalen Retroflexion zeigen (Cubo et al., 2000a).

Namensgebend ist die supranukleäre vertikale Blickparese. Diese entwickelt sich über Monate oder Jahre und kann zu Beginn der Erkrankung fehlen. Wesentlich ist die vertikale Blickparese nach unten. Eine vertikale Blickparese nach oben ist erst ab einer Amplitudenminderung um 50% diagnoseweisend, da leichte Amplitudeneinschränkungen auch bei gesunden Älteren und Patienten mit Morbus Parkinson beobachtet werden. Eine Sakkadenverlangsamung geht der Blickparese zeitlich häufig voraus. Die Untersuchung der Okulomotorik kann unter Umständen durch einen Blepharospasmus erschwert werden.

Als ein weiterer wichtiger Hinweis für eine PSP müssen Stürze im ersten Jahr nach Beginn der motorischen Symptome gewertet werden. Sie sind Ausdruck der rasch zunehmenden posturalen Instabilität der Patienten. Typischerweise stürzen PSP Patienten nach hinten. Betroffene entwickeln zudem ein pseudobulbäres Syndrom mit Dysarthrie und Dysphagie.

Auch Persönlichkeitsveränderungen mit apathischem und depressivem Verhalten sind häufig. Über 80% der Patienten entwickeln eine frontotemporale Demenz (Litvan et al., 2003).

Autonome Funktionsstörungen sind hingegen eher untypisch. Patienten klagen jedoch häufig über Obstipation. Untersuchungen zur gastrointestinalen Motilität bei PSP liegen nicht vor.

Für die Diagnosestellung wurden im Expertenkonsens Kriterien ermittelt (Tab. 2). Dabei dienten 83 Patienten mit neuropathologisch gesicherter Erkrankung aus dem Parkinsonschen Formenkreis (PSP=24, corticobasale Degeneration=11, Morbus Parkinson=11, MSA=15, Lewy-Körper-Demenz=14, Morbus Pick=8) als Evaluationsbasis. Die klinische Diagnose wird mit dem Prädikat „wahrscheinliche“ bzw. „mögliche“ PSP belegt. Die Spezifität einer wahrscheinlichen Diagnose liegt bei 100%, die einer möglichen PSP-Erkrankung bei 93%. Die Sensitivität ist deutlich niedriger. Eine prospektive Studie zur Evaluierung der Kriterien ist bisher nicht erfolgt. Für die Ermittlung von Studienpopulationen sind die Richtlinien trotzdem geeignet (Litvan et al., 1996b, Respondek, 2010).

Für eine sichere Diagnose ist eine neuropathologische Untersuchung post mortem nötig. Bei der PSP findet man hyperphosphorylierte 4R-Tau-Protein Ablagerungen. Diese lassen sich in Form von neuronalen „Tangles“ sowie axonalen „Threads“ in den Somata und Dendriten von Neuronen nachweisen. Zudem liegen Tau-Aggregate auch in Astrozyten („Tuft“) und Oligodendrozyten („Coiled bodies“) vor. Neuronenverlust und Gliose bestimmen das pathologische Bild, sind jedoch in der Ausprägung variabel. Insbesondere sind folgende Regionen betroffen: Nucleus subthalamicus, Substantia nigra pars compacta, oberer Kleinhirnstiel, Globus pallidus internus (Hauw et al., 1994).

Tab. 2: Diagnosekriterien der Progressiven Supranukleären Blickparese nach Litvan 1996 (Litvan et al., 1996a)

Voraussetzung: Allmähliche progressive Erkrankung mit Beginn nach dem 40. Lebensjahr		
Mögliche PSP	Wahrscheinliche PSP	Definitive PSP
<p>Vertikale supranukleäre Blickparese nach oben (Amplitudenminderung > 50%) oder unten</p> <p>oder</p> <p>Verlangsamung der vertikalen Sakkaden und prominente posturale Instabilität mit Stürzen im ersten Jahr der Erkrankung</p>	<p>Vertikale supranukleäre Blickparese nach oben (Amplitudenminderung > 50%) oder unten</p> <p>und</p> <p>prominente posturale Instabilität mit Stürzen im ersten Jahr der Erkrankung</p>	<p>Klinisch mögliche oder wahrscheinliche PSP</p> <p>und</p> <p>histopathologische Zeichen einer typischen PSP</p>
Ausschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enzephalitis in jüngerer Vorgeschichte ➤ Phänomen der fremden Extremität („Alien limb“) ➤ Halluzinationen oder Verkennungen unabhängig von einer dopaminergen Therapie ➤ Kortikale Demenz vom Alzheimer-Typ ➤ prominente frühe Zeichen einer Kleinhirnfunktionsstörung oder einer autonomen Dysfunktion ➤ schwere asymmetrische Zeichen eines Parkinson-Syndroms ➤ neuroradiologischer Nachweis relevanter struktureller Abnormitäten ➤ Vorliegen einer Whipple-Krankheit 	
Unterstützende Kriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Symmetrische Akinesie oder proximal betonte Rigidität ➤ abnorme Kopf- bzw. Nackenhaltung, insbesondere Retrocollis ➤ kaum oder nur geringes Ansprechen des Parkinson-Syndroms auf L-Dopa ➤ frühe Dysphagie und Dysarthrie ➤ früher Beginn einer kognitiven Beeinträchtigung mit Vorliegen von zumindest zwei der folgenden Symptome: Apathie, Beeinträchtigung des abstrakten Denkens, reduzierte verbale Flüssigkeit, Utilisations- oder Imitierungsverhalten, Frontalhirnzeichen 	

1.2.4 Therapie und Prognose

Die therapeutischen Möglichkeiten für PSP Patienten sind gering. Eine Progression der Erkrankung kann nicht verhindert werden. In der Regel wird eine Therapie mit L-Dopa begonnen. Die Bewegungsstörung lässt sich bei gut einem Drittel der Patienten anfänglich verbessern. Im weiteren Verlauf nimmt die Wirksamkeit jedoch immer weiter ab (O'Sullivan et al., 2008).

Auch eine Therapie mit Amantadin kann die klinische Symptomatik bei einigen Patienten geringgradig verbessern (Rajrut et al., 1997).

Zudem gibt es Einzelfallberichte über eine Verbesserung der Ophthalmoplegie sowie der Dysphagie und Dysarthrie unter einer Therapie mit Zolpidem, einem GABA-Agonisten am Benzodiazepin-Rezeptor (Cotter et al., 2010, Dash, 2013).

In einer klinischen Phase-II-Studie konnte ein geringer, aber signifikanter Effekt von Coenzym Q10 auf die klinische Symptomatik von PSP-Patienten in der „PSP Rating Scale“ und der „Frontal Assessment Battery“ nachgewiesen werden (Stamelou et al., 2008). Q10 ist ein wichtiges Coenzym in der mitochondrialen Atmungskette.

Logopädie und Physiotherapie sollen Funktionen im Alltag möglichst lange erhalten und den Pflegebedarf reduzieren. Kleinere Studien untersuchen mögliche Behandlungsoptionen, wie zum Beispiel ein Balancetrainingsprogramm oder Übungen zur Verbesserung der Augenmotilität (Zampieri and Di Fabio, 2009, Di Pancrazio et al., 2013).

Die Prognose der Patienten bleibt schlecht. Sie werden früh pflegebedürftig. Zudem führen häufige Stürze zu schweren Verletzungen. Im Verlauf sind die Patienten auf einen Rollstuhl angewiesen.

Die Kommunikation mit den Patienten ist durch die progrediente Dysarthrophonie stark eingeschränkt. Bei Fortschreiten der Erkrankung entwickeln mehr als die Hälfte der Patienten Zeichen einer subkortikalen Demenz, jedoch zum Teil auch begleitet von Anzeichen einer frontotemporalen Demenz mit frontaler Dysfunktion, Wesensveränderungen, Sprachverarmung bis Mutismus und einer Antriebsarmut (O'Sullivan et al., 2008, Kobylecki et al., 2015).

Die Nahrungsaufnahme ist wegen der zunehmenden Dysphagie problematisch. Am Ende der Erkrankung werden viele Patienten über eine Gastrostomie ernährt. Eine Aspirationspneumonie ist die häufigste Todesursache (Warnecke et al., 2010).

Durchschnittlich versterben die Patienten 6-9 Jahre nach Beginn der motorischen Symptomatik (Colosimo et al., 2013).

1.3 Ghrelin

In den ersten Jahren der Ghrelinforschung wurde überwiegend dessen Einfluss auf die Energiehomöostase sowie die Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt beachtet. Ghrelin wurde populärwissenschaftlich als das „Hungerhormon“ präsentiert. Doch dieser Ansatz greift zu kurz. Jüngste Erkenntnisse zeigen zytoprotektive Eigenschaften von Ghrelin auf. Diese sind auch für dopaminerge Zellen der Substantia nigra pars compacta nachgewiesen, die den Ghrelinrezeptor exprimieren (Jiang et al., 2008, Andrews et al., 2009). Der Rezeptor konnte auch in anderen Kerngebieten, wie dem Hypothalamus, dem Hippocampus und den Raphekernen, nachgewiesen werden. Ghrelin beeinflusst durch die Bindung höhere Hirnfunktionen wie Gedächtnis und Lernfähigkeit, depressives und ängstliches Verhalten sowie das Belohnungszentrum (Zigman et al., 2006, Andrews, 2011, Beck and Pourie, 2013, Perello and Dickson, 2015).

Neurodegenerative Erkrankungen, wie z.B. der Morbus Parkinson, weisen neben motorischen Beeinträchtigungen auch eine Reihe nicht-motorischer Symptome auf, die von einer gestörten Magen-Darmmotilität über ein verändertes Schlafverhalten bis hin zu einer depressiven Stimmungslage reichen können. Bei Patienten mit Morbus Parkinson wurde eine gestörte postprandiale Ghrelinsekretion beschrieben (Unger et al., 2011b).

1.3.1 Struktur und Rezeptor

Ghrelin ist ein Peptidhormon aus 28 Aminosäuren mit einer Molmasse von 3,37 kDa. Das Gen liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 3 und kodiert für das Vorläuferprotein Preproghrelin. Durch posttranslationale Modifikation entstehen die beiden im Blut zirkulierenden Formen acyliertes (AG) und desacyliertes Ghrelin (DAG) sowie Obestatin (Lacquaniti et al., 2011).

Bisher ist lediglich der Rezeptor von AG bekannt. Dieser wurde 1996 als Zielstruktur synthetischer Wachstumshormonliberatoren identifiziert und entsprechend als growth hormone secretagogue receptor (GHSR 1a) bezeichnet. Nach der Entdeckung seines natürlichen Liganden wurde er, internationalen Richtlinien entsprechend, in

Ghrelinrezeptor umbenannt (Davenport et al., 2005). Der Ghrelinrezeptor ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor mit sieben Transmembranhelices, dessen Aktivierung zu einer Freisetzung von Kalzium aus dem endoplasmatischen Retikulum führt (Sato et al., 2012). Es gibt eine zweite Splicevariante des Rezeptors, den GHSR 1b, dessen Funktion bislang ungeklärt ist (Kojima and Kangawa, 2005).

Die Ghrelin-O-Acyltransferase (GOAT) katalysiert die Acylierung von DAG an der Aminosäure Serin in Position 3 und ermöglicht damit die Bindung an den Ghrelinrezeptor. Die Länge der Fettsäure variiert von C2 bis C14, wobei am häufigsten mit Oktan- oder Dekansäure verestert wird (Gutierrez et al., 2008). Die Länge der aliphatischen Kohlenstoffkette beeinflusst das Aktivitätsmuster des Ghrelinrezeptors (Heppner et al., 2012).

1.3.2 Synthese und Funktion

Ghrelin-mRNA, als Hinweis auf eine stattfindende Synthese konnte in diversen peripheren Organen, vor allem im Magen und Pankreas, aber auch im ZNS, unter anderem in einigen Kerngebieten des Hypothalamus, im Nucleus arcuatus, der Hypophyse und im Ependym des dritten Ventrikels nachgewiesen werden (Gnanapavan et al., 2002, Ferrini et al., 2009). Die GOAT wird in vielen dieser Organe koexprimiert (Lim et al., 2011). Der Großteil der Ghrelinkonzentration im Plasma stammt jedoch aus dem Gastrointestinaltrakt. Die endokrinen P/D1 Zellen findet man vor allem im Magen, nach aboral nimmt ihre Dichte ab. Im Colon wird kein Ghrelin synthetisiert (Wierup et al., 2007). Nach einer Gastrektomie sinkt die Ghrelinkonzentration im Plasma um 65% (Ariyasu et al., 2001). Der Magen ist damit der bedeutendste Produktionsort des Peptidhormons.

Über die genauen Signalwege, die zu einer gesteigerten Synthese und Sekretion führen ist bisher wenig bekannt. Die P/D1 Zellen im Magen gehören zu den „closed type“ endokrinen Zellen und finden sich überwiegend im basalen Anteil der Magendrüsen. Somit stehen sie nicht direkt mit dem Magenlumen in Kontakt und es ist davon auszugehen, dass sie von extraluminalen Hormonen und/oder neuronaler Stimulation in ihrem Synthesemuster beeinflusst werden (Sakata and Sakai, 2010).

Die Ghrelinspiegel schwanken im Tagesverlauf abhängig von der Nahrungsaufnahme. In Erwartung einer Mahlzeit steigt die Ghrelinkonzentration an und fällt postprandial

wieder ab. Letzteres tritt mit einiger Verzögerung auch bei Ausbleiben der erwarteten Mahlzeit ein (Cummings et al., 2001b). Davon abzugrenzen ist die basale Ghrelinkonzentration. Übergewichtige und ältere Menschen weisen niedrigere Spiegel auf (Tschoep et al., 2001, Rigamonti et al., 2002). Erhöhte Ghrelinspiegel lassen sich nach einer zwölfstündigen Fastenperiode oder auch bei Patienten mit Anorexia nervosa nachweisen (Ariyasu et al., 2001, Mequinion et al., 2013). Bisher gibt es keine etablierten Normwerte für die Ghrelinkonzentration im Plasma. AG macht etwa 10-20% der Gesamtkonzentration aus (Pemberton and Richards, 2008). Nach der derzeitigen Studienlage liegen die Nüchternwerte von AG im peripher venösen Blut bei 48-77 pg/ml und für DAG bei 111-190 pg/ml (Goodyear et al., 2010). Ghrelin hat im Körper vielfältige Funktionen. Ursprünglich entdeckt wurde AG als Stimulans der Wachstumshormonfreisetzung (Kojima et al., 1999). Beide Zustandsformen sind an der Regulation der Energiehomöostase beteiligt. AG erhöht die Nahrungsaufnahme und wirkt appetitanregend über „Agouti related peptides“ und Neuropeptid Y Neurone im Nucleus arcuatus des Hypothalamus (Ferrini et al., 2009). Außerdem bindet es in der Peripherie an Ghrelinrezeptoren auf Afferenzen des Nervus vagus, was zu einer verminderten afferenten Aktivität der Neurone führt und ebenfalls das Hungergefühl stimuliert (Date et al., 2002). Es fördert die Magenmotilität, sowohl über eine verstärkte Aktivierung von efferenten Neuronen im Nucleus dorsalis nervi vagi, als auch über eine Beeinflussung des myenterischen Nervensystems (Tack et al., 2006, Zigman et al., 2006). Im Gehirn verbessert AG über eine Erhöhung der synaptischen Plastizität im Hippocampus Lern- und Gedächtnisfähigkeiten (Steiger et al., 2011). Für diese Arbeit besonders interessant ist der Nachweis von Ghrelinrezeptoren auf dopaminergen Neuronen der Substantia nigra pars compacta, eine maßgeblich an der motorischen Parkinson Symptomatik beteiligte extrapyramidale Struktur. In der Maus stimuliert AG die Dopamin (DA) Freisetzung und erhöht die DA Konzentration im Striatum (Andrews et al., 2008a, Shi et al., 2013). Unter MPTP Gabe, einem Neurotoxin, das selektiv in dopaminergen Neuronen der Substantia nigra den Komplex 1 der Atmungskette inhibiert, wirkte Ghrelin neuroprotektiv (Jiang et al., 2008, Andrews et al., 2009). Diesen Effekt erreicht es vermutlich durch eine Verbesserung der mitochondrialen Funktion (Andrews et al., 2008b).

1.4 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit untersucht, wie sich die beiden Ghrelinzustandsformen, AG und DAG, bei MSA und PSP Patienten in ihrer Freisetzung prä- und postprandial verhalten. Da AG und DAG unterschiedliche Funktionen haben ist eine getrennte Analyse sinnvoll. MSA und PSP sind atypische Parkinson-Syndrome unterschiedlicher Pathophysiologie. Es soll überprüft werden, ob bei der MSA, als Alpha-Synukleinopathie, wie beim Morbus Parkinson ein gestörter Wiederanstieg von Ghrelin nach einer Testmahlzeit besteht. Dies könnte in Zusammenhang mit einer Neurodegeneration im Nucleus dorsalis nervi vagi stehen, die bei Parkinson und MSA Patienten nachgewiesen wurde. So könnte Ghrelin ein potentieller Biomarker dieser Parkinson-Syndrome sein. Die Untersuchung ist zudem von Relevanz, da Ghrelin neuroprotektiv auf nigrale dopaminerge Zellen wirkt. Ghrelin könnte daher auch in therapeutischer Hinsicht eine wichtige Rolle zukommen.

2 Probanden und Methodik

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte von Oktober 2010 bis Dezember 2012. Ein positives Votum der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg über die durchgeführte Studie (187/09) liegt vor.

2.1 Probanden

2.1.1 Rekrutierung

Die Probanden wurden überwiegend aus dem Patientenpool der Universitätsklinik für Neurologie in Marburg rekrutiert.

Es wurden auch Patienten eingeschlossen, die sich allein aus Studieninteresse mit der Klinik in Verbindung setzten (1 Patient) oder Mitglied der Deutschen Gesellschaft für PSP (1 Patient) waren. Die Diagnose wurde dann auf Grund der klinischen Untersuchung und an Hand von mitgebrachten Arztbriefen gestellt.

Die Kontrollgruppe setzte sich zu einem großen Teil aus Angehörigen der Probanden zusammen.

Jeder Patient/jede Kontrollperson wurde über die Ziele und Risiken der Untersuchung aufgeklärt. Eine Beendigung der Teilnahme war ohne die Angabe von Gründen jederzeit möglich. Eine schriftliche Einverständniserklärung liegt von jedem Studienteilnehmer vor.

Angefallene Fahrt- und Übernachtungskosten wurden aus dem Studienfond beglichen. Da Kontrollpersonen kein Eigeninteresse an der Parkinson-Forschung unterstellt werden kann, erhielten sie für die Teilnahme an der Studie eine finanzielle Aufwandsentschädigung in Höhe von 50,- Euro.

Alle Probandendaten wurden anonymisiert.

2.1.2 Das Probandenkollektiv

Es wurden 125 Patienten kontaktiert, wovon 36 in die Studie eingeschlossen wurden. Im Verlauf revidierte Diagnosen (4 Patienten), Diabetes mellitus (3 Patienten) und Rauchen während des Untersuchungszeitraums (1 Patient) führten nachträglich zum Ausschluss von 8 Patienten.

Die Kontrollgruppe wurde gemeinsam mit einer anderen Promotionsarbeit rekrutiert und untersucht. Da im Rahmen der Rekrutierungsmethode überwiegend die Partner

der Patienten untersucht wurden, führte dies zu einem Überwiegen des weiblichen Geschlechts bei den Kontrollen.

In die Ergebnisanalyse gingen 51 Probanden ein:

- 15 MSA Patienten, davon 12 mit einer klinisch wahrscheinlichen MSA und 3 mit einer klinisch möglichen MSA nach Gilman et al. (2008)
- 13 PSP Patienten, davon 9 mit einer klinisch wahrscheinlichen PSP und 4 mit einer klinisch möglichen PSP nach Litvan et al. (1996)
- 23 gesunde Kontrollpersonen

2.1.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Kriterien zur Teilnahme an der Studie ergaben sich aus juristischen Vorgaben sowie aus Überlegungen bezüglich möglicher Störfaktoren des Ghrelinstoffwechsels.

Es folgt eine Auflistung der Ein- und Ausschlusskriterien:

Allgemeine Einschlusskriterien

- Männliche und weibliche Personen im Alter von 35-80 Jahren
- Schriftliches Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an der Studie
- Der Teilnehmer ist in der Lage, Risiken und Komplikationen der Untersuchungen zu verstehen und zu beurteilen

Zusätzliche Einschlusskriterien für MSA Patienten

- Klinisch mögliche oder wahrscheinliche MSA nach Gilman et al. (2008)

Zusätzliche Einschlusskriterien für PSP Patienten

- Klinisch mögliche oder wahrscheinliche PSP nach Litvan et al. (1996)

Allgemeine Ausschlusskriterien

- Nicht einwilligungsfähige Personen
- Schwangere Frauen
- Magen-Darm-Operationen in der Vergangenheit (Ausnahme: Cholezystektomie und Appendektomie)
- Diabetes mellitus
- Einnahme von Medikamenten innerhalb der letzten 14 Tage, die die Motilität des Magendarmtraktes beeinflussen oder Ghrelin dysregulieren könnten, wie Anticholinergika (Pirenzepin, Biperiden, Metixen, Butylscopolamin) oder trizyklische Antidepressiva

Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom erhalten zur Verbesserung der Symptomatik häufig hohe Dosen L-Dopa. Die durch die Medikation gelegentlich hervorgerufene Übelkeit wird mit dem peripher wirkenden Dopaminagonisten Domperidon behandelt. Sowohl L-Dopa als auch Domperidon haben Einfluss auf die Magenmotilität. In einer vorangegangenen Studie konnte allerdings kein Unterschied in der Ghrelinkonzentration bei Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom mit und ohne L-Dopa-Therapie nachgewiesen werden (Unger et al., 2011a). Domperidon hat eine Halbwertszeit von 7-9 Stunden. Bei Niereninsuffizienz verlängert sich diese zum Teil auf über 20 Stunden. Der Effekt von Domperidon auf die Ghrelinkonzentration ist bisher nicht untersucht. Um den möglichen Einfluss auf die Ghrelinspiegel zu minimieren, wurden die Patienten aufgefordert, die Medikation mit Domperidon am Abend vor der Studie zu pausieren.

Während der Untersuchung wurde, sofern dies mit der klinischen Symptomatik vereinbar erschien, auf die Einnahme der Parkinson Medikamente verzichtet. Medikamente, bei denen eine Pausierung ethisch nicht zu vertreten gewesen wäre, wurden mit der Testmahlzeit verabreicht.

2.2 Versuchsdurchführung

2.2.1 Untersuchungsablauf

Der Untersuchungsbeginn wurde am Morgen zwischen 7.00 Uhr und 9.00 Uhr festgesetzt. Es wurde darauf geachtet, diesen möglichst konform mit der gewohnten Frühstückszeit des Probanden zu wählen. Die Probanden waren zum Untersuchungszeitpunkt mindestens 9 Stunden für feste und flüssige Nahrung nüchtern. Auch der Zigarettenkonsum musste eingestellt werden.

Sofern es die klinische Symptomatik des Patienten erlaubte, wurde auf die dopaminerge Therapie während der Studie verzichtet.

Jedem Probanden wurde am Unterarm eine Venenverweilkanüle gelegt, worüber die Blutentnahmen erfolgten. Nach der ersten Blutabnahme zur Bestimmung des Nüchternwertes erhielten die Probanden eine Testmahlzeit, bestehend aus einem Kaiserbrötchen (ca. 250 kcal) mit 10 g Butter, einem Spiegelei (Gewichtsklasse M) und 250 ml stillem Wasser. Für die Einnahme der Mahlzeit war ein Zeitrahmen von 10 min

kalkuliert. Die weiteren Blutentnahmen fanden in einem vorgegebenen Intervall, wie folgt statt:

1. Nüchternwert (vor der Testmahlzeit)
2. 0 min (unmittelbar nach der Testmahlzeit)
3. 30 min postprandial
4. 60 min postprandial
5. 120 min postprandial
6. 180 min postprandial
7. 240 min postprandial
8. 300 min postprandial

Für die Analyse von AG und DAG waren separate EDTA-Monovetten mit 2,6 ml Füllvolumen nötig. Insgesamt wurde jedem Probanden damit 8 x 5,2 ml (41,6 ml) Blut entnommen.

Zwischen den Blutabnahmen wurden die Probanden internistisch und neurologisch untersucht. Außerdem wurde die klinische Symptomatik mit Hilfe von klinischen Skalen evaluiert. Während der Untersuchung waren Essen, Trinken sowie Rauchen und Kaugummikauen zu unterlassen.

2.2.2 Probenverarbeitung und –analyse

Zur quantitativen Analyse der Ghrelinkonzentrationen wurde ein Enzyme-linked Immunosorbant Assay (ELISA) der Firma Bertin Pharma verwendet. Die Spezifität für die jeweilige Hormonunterform wird vom Hersteller mit 100% angegeben, die zu strukturell ähnlichen Molekülen beträgt < 0,06%. Im Rahmen des Kalibrierungsprozesses wurden die Standardwerte der Ghrelinkonzentrationen auf der ELISA-Platte mit einer Verdünnung von 125 pg/ml bis 0,98 pg/ml festgelegt. Abgesehen von dieser Modifikation wurde nach den Anweisungen des Herstellers „SPI-Bio“ vorgegangen.

Die Verarbeitungsschritte von AG und DAG werden im Folgenden beschrieben. Da AG im Blut rasch von Proteasen abgebaut wird, wurden die Monovetten unmittelbar vor Untersuchungsbeginn mit 26 µl (10 µl pro ml Blut) P-Hydroxymercuribenzoidsäure (PHMB), einem Proteaseinhibitor, versehen. Die Weiterverarbeitung der Proben erfolgte innerhalb von 30 min nach der Blutabnahme. Dafür wurden die Monovetten

bei 4°C 10 min bei 3500 U/min zentrifugiert. 1000 µl Plasma aus den Monovetten für DAG konnte direkt für die Lagerung in Cluster-Tubes pipettiert werden. Aus dem Plasma für die AG Analyse wurden 1200 µl in Zentrifugenröhrchen überführt und mit 120 µl 1N HCl (100 µl pro ml Plasma) versetzt. Die Mischung wurde anschließend für 5 min bei 3500 U/min zentrifugiert. 1000 µl des Überstandes wurden dann in Cluster-Tubes bei -20 °C bis zur Analyse gelagert.

Zur Konzentrationsmessung wurden die Proben aufgetaut und je 100 µl in die vorgesehenen Einkerbungen der Mikrotiterplatten pipettiert. Diese waren mit murinen monoklonalen Antikörpern beschichtet, die spezifisch an das C-terminale Ende von Ghrelin binden. Für diesen Vorgang wurden die Platten für 20 Stunden bei 4°C inkubiert. Danach wurden die Platten gewaschen, um die nicht an Antikörper gebundenen Blutbestandteile zu entfernen. Nach spezifischer Markierung des N-Terminus der Analyten mit einem weiteren Antikörper, wurden die Assay-Platten gespült. Der gebildete Sandwich-Komplex wurde für die photometrische Messung mit Ellman's Reagenz versetzt. Das darin enthaltene Acetylthiocholin wird durch die am zweiten Antikörper gebundene Acetylcholinesterase zu dem gelben Farbstoff 5-Thio-2-nitrobenzoesäure umgesetzt. Die Farbintensität ist proportional zu der gebundenen Ghrelinkonzentration und wurde mittels Photospektrometer gemessen.

Alle Analysen wurden von derselben, erfahrenen Medizinisch-Technischen-Laboratoriumsassistentin durchgeführt.

Die photometrische Auswertung einiger Proben lieferte Werte außerhalb des Kalibrationsbereichs. Nach Anpassung der Konzentrationen an den konfidenten Messbereich, wurde das Analysenergebnis auf die Realkonzentration extrapoliert. Nach diesem Prozedere wurde mit den Proben von fünf Kontrollpersonen, einem PSP- und einem MSA-Patienten verfahren.

2.2.3 Geräte- und Materialliste

Geräteliste

10-100 µl, 20-200 µl und 200-1000 µl Pipette (Eppendorf)

Zentrifuge (Heraeus Megafuge 11R, Thermo scientific, Bestellnummer 75004412)

Schüttler (Heidolph Duomax 1030, Bestellnummer 543-32205-00)

Elisa-Reader (Dynex MRX, Bestellnummer 20310)

Materialliste

Multiadapter für S-Monovette (Sarstedt, Bestellnummer 14.1205)

Mandrin/Stylet (Braun, Artikelnummer 4219104)

Sicherheitsvenenverweilkatheter (Braun, Artikelnummer 4268113S-01)

Safety-Multifly-Kanülen für S-Monovette (Sarstedt, Bestellnummer 85.1638.205)

Pipettenspitzen (Greiner)

S-Monovetten EDTA 2,6 ml (Sarstedt, Bestellnummer 04.1901)

Rohren-Tubes (Sarstedt, Bestellnummer 55.475)

8-Strip Cluster-Tubes (Corning Incorporated, Corning No. 4408)

Deckel für 8 Cluster-Tubes (Corning Incorporated, Corning No. 4418)

Ghrelin (human acylated) ELISA Kit (SPI-Bio, Cayman Chemical Item Number 10006306)

Ghrelin (human unacylated) ELISA Kit (SPI-Bio, Cayman Chemical Item Number 10008952)

1 N Salzsäure (Merck, Bestellnummer 1090571000)

P-Hydroxymercuribenzoidsäure, PHMB (nach ELISA Anleitung)

2.2.4 Fragebögen

Während der Untersuchung wurden krankheitsrelevante Fragebögen bearbeitet. Diese dienen der klinischen Evaluation der Probanden und werden im Folgenden kurz vorgestellt.

Die **Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)** erfasst die klassischen Symptome der Parkinsonschen Erkrankung in 4 Teilbereichen: Kognitive Funktion, Verhalten und Stimmung (Teil 1), Aktivitäten des täglichen Lebens (Teil 2), Motorische Untersuchung (Teil 3), Nebenwirkung der Behandlung (Teil 4). Jedes Symptom wird nach seinem Ausprägungsgrad von 0 (keine Beschwerden) bis 4 (stärkste Beschwerden) bewertet (Fahn et al., 1987).

Bei maximaler Symptomausprägung liegt der UPDRS Gesamtscore (Teil 1-3) bei 176 Punkten. Teil 4 wurde in dieser Arbeit nicht erhoben.

Auch wenn ursprünglich für den Morbus Parkinson entwickelt, beweist der UPDRS auch bei MSA und PSP Patienten eine gute interne Konsistenz und wird häufig zur

Beurteilung der klinischen Beeinträchtigung herangezogen (Cubo et al., 2000b, Tison et al., 2013)

Die **Hoehn and Yahr Staging Skala (H&Y)** wurde zur Stadieneinteilung bei Patienten mit Morbus Parkinson entwickelt (Hoehn and Yahr, 1967). In β -CIT-SPECT Untersuchungen konnte man eine positive Korrelation zwischen H&Y Stadium und dopaminergen Neuronenverlust in der Substantia nigra zeigen (Staffen et al., 2000).

Ein H&Y Stadium 1 liegt vor, wenn sich die Parkinson Symptomatik auf eine Körperhälfte beschränkt. Im Stadium 2 besteht die Symptomatik bilateral. Leidet der Patient unter einer posturalen Instabilität, wird er dem Stadium 3 zugeordnet. In den beiden höchsten Stadien 4 (Patient ist nur noch eingeschränkt gehfähig) und 5 (Patient ist bettlägerig oder rollstuhlpflichtig) ist die Lebenszeit deutlich reduziert (Goetz et al., 2004). Da PSP und MSA Patienten häufig schon zu Beginn der Erkrankung eine symmetrische Verteilung der Symptomatik haben und auch früh Beeinträchtigungen des Gleichgewichts bestehen, werden sie häufig höheren Stadien zugeordnet (Muller et al., 2000).

Die **Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS)** wurde speziell für MSA Patienten entwickelt (Wenning et al., 2004). Im Unterschied zum UPDRS wird unter anderem auch die cerebelläre Symptomatik und autonome Funktionsstörung mit Blasenentleerungsstörungen, erektiler Dysfunktion sowie Obstipation in die Bewertung mit einbezogen. Da noch keine deutsche Version vorliegt, fand in dieser Arbeit die englische Version Verwendung. Der Fragebogen wurde nur bei MSA Patienten erhoben.

Die UMSARS umfasst vier Abschnitte, in denen Symptome zu den Bereichen „Historical Review“ (Part 1, 0-28 Punkte), „Motor Examination“ (Part 2, 0-56 Punkte) und „Autonomic Examination“ erfragt und nach Ihrem Ausprägungsgrad von normal (0 Punkte) bis stark (4 Punkte) gewertet werden. In Teil 3 wird die orthostatische Dysregulation mittels Blutdruck- und Pulsmessung in Ruhe und nach 1 Minute Stehen untersucht. Ein systolischer bzw. diastolischer Blutdruckabfall ≥ 30 mmHg bzw. ≥ 15 mmHg wird als MSA-typisch gewertet. Die Stadieneinteilung der Erkrankung wird im 4. Teil nach dem Kriterium der Hilfsbedürftigkeit von 1 (vollständig unabhängig) bis 5 (voll pflegebedürftig) vorgenommen. Dieser Teil ging nicht in die Auswertung ein.

Die **Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale (PSPRS)** bietet das Äquivalent für PSP Patienten (Golbe and Ohman-Strickland, 2007). Auch bei diesem Fragebogen wurde die englische Version verwendet. In sechs Teilen (Part 1: „History“, Part 2: „Mentation“, Part 3: „Bulbar Exam“, Part 4: „Ocular Exam“, Part 5: „Limb Exam“, Part 6: „Gait Exam“) werden die wichtigsten Symptome der PSP inklusive der Augenbewegungsstörung, Dysarthrie und -phagie sowie kognitiver Veränderungen mit Bradyphrenie und Affektinkontinenz bewertet. Entsprechend des Ausprägungsgrades wird die Symptomatik mit bis zu 100 Punkten bewertet.

Für die Neuropsychologische Testung der Probanden wurden der „Mini-Mental State Test“ (MMST) sowie der für Parkinson-Patienten entwickelte „Parkinson Neuropsychometric Dementia Assessment“ (PANDA) angewandt. Mit den PSP Patienten wurde zusätzlich die „Frontal Assessment Battery“ (FAB) bearbeitet.

Der **MMST** ist der gebräuchlichste Screeningbogen zur Beurteilung der kognitiven Leistungsfähigkeit eines Patienten (Folstein et al., 1975). Er testet die Orientierung, die Rechenfähigkeit, die Aufmerksamkeit und Konzentration, das Kurzzeitgedächtnis, das Sprachverständnis und die visuell-räumlichen Fähigkeiten. Maximal können 30 Punkte erreicht werden. Ab einem Punktwert von 24 muss eine Demenz mit weiteren Tests ausgeschlossen werden. Der MMST ist vielfach validiert und schnell durchzuführen. Allerdings haben Alter und Bildungsniveau Einfluss auf das Testergebnis (Lorentz et al., 2002). Zudem ist er für eine leichte kognitive Beeinträchtigungen nur wenig sensitiv (Blackburn et al., 2013).

Der **PANDA** erfasst kognitive Leistungseinschränkungen bei Parkinson Patienten sensitiver als der MMST (Kalbe et al., 2008). Er untersucht die mnestiche Funktion mittels Paarassoziationslernen durch unmittelbare und verzögerte Abfrage der Wortpaare. Außerdem prüft er die alternierende Wortflüssigkeit, das räumliche Vorstellungsvermögen sowie die Aufmerksamkeit und das Arbeitsgedächtnis mittels Zahlenabfolgen, die dann vom Patienten, der Größe nach geordnet, rekapituliert werden. Ausgewertet wird der Test altersabhängig. Eine allenfalls leichte kognitive Dysfunktion besteht bei einem Ergebnis zwischen 15-17 Punkten, darunter ist ein dementielles Syndrom wahrscheinlich. Zur Einschätzung der Stimmungslage bietet der Test drei Aussagen, die der Patient mit den Antworten „trifft vollständig – weitgehend – weniger – gar nicht zu“ für sich bewerten soll. Ergeben sich im Stimmungstest 4

Punkte ist das Ergebnis des PANDA nur eingeschränkt aussagekräftig (Kulisevsky and Pagonabarraga, 2009).

Die **FAB** ist ein schnelles Testverfahren zum Screening auf exekutive Dysfunktion (Dubois et al., 2000). In sechs Aufgaben wird die Fähigkeit des Konzeptualisierens (Feststellen von Gemeinsamkeiten zwischen Objekten, z.B. Tisch und Stuhl), die Wortflüssigkeit, das Erlernen einer Bewegungsabfolge (Luria Test), die Beeinflussbarkeit (Untersucher klatscht zweimal in die Hände, Patient soll nur einmal klatschen), die inhibitorische Kontrolle (Untersucher klatscht, Patient darf nicht klatschen) und die Unterdrückung des Greifreflexes überprüft. Bei jeder Aufgabe werden bis zu drei Punkte vergeben. Der Maximal-Summenscore liegt bei 18 Punkten. Exakte Cut-Off Werte, die als Hinweis auf eine frontale Dysfunktion gewertet werden können, sind noch nicht bekannt. Die FAB wurde in der Gruppe der PSP Patienten angewandt, da sie häufig von einer eingeschränkten Frontalhirnfunktion betroffen sind. Dabei fand die englische Version Verwendung, da erst nach Beginn dieser Studie auch eine deutsche Version veröffentlicht wurde (Benke et al., 2013).

Der „**Beck's Depression Inventory**“ (**BDI**) ist ein gutes Selbstbeurteilungsinstrument zur Diagnose und Schweregradeinschätzung einer Depression (Kuhner et al., 2007). Mit der Anpassung an die bestehenden DSM IV Kriterien für die Diagnose einer Depression in der aktuellen Fassung des BDI, dem **BDI II**, konnte die diagnostische Sensitivität weiter erhöht werden.

Die Antwortmöglichkeiten der 21 Items sind dem Schweregrad nach in aufsteigender Reihenfolge, vierstufig angeordnet. Im Test soll die Stimmungslage der letzten 2 Wochen beurteilt werden. Ergibt der BDI II einen Punktwert von 0-13 besteht keine, bei 14-19 Punkten eine milde, bei 20-28 Punkten eine moderate und bei 29-63 Punkten eine schwere depressive Symptomatik.

Der „**REM Sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire**“ (**RBDSQ**) ist ein sensitiver Fragebogen zur Erfassung der REM-Schlaf-Verhaltensstörung (Stiasny-Kolster et al., 2007). Die zehn Entscheidungsfragen des RBDSQ können vom Patienten in Eigenregie mit „Ja“ oder „Nein“ beantwortet werden. Bei fünf „Ja“ Antworten besteht der dringende Verdacht auf eine RBD. Auf Grund der geringen Spezifität des Tests ist zur Sicherung der Diagnose eine polysomnographische Untersuchung anzuschließen.

2.3 Zielgrößen und statistische Auswertung

Im Sinne des explorativen Charakters der Studie wurden die Mittelwerte von AG und DAG, der Quotient aus AG zur Gesamtghrelinkonzentration, das Verhältnis von AG zu DAG, sowie die „Area under the curve“ analysiert. Letztere ist ein in der statistischen Auswertung von Hormonkonzentrationen gebräuchliches Verfahren. Es gibt zwei Arten die AUC zu berechnen, die AUC „with respect to the ground“ (AUC_G) und die AUC „with respect to the increase“ (AUC_I). Beide basieren auf demselben mathematischen Verfahren, der Trapezregel. Für die AUC_G wird die Fläche zwischen der Mittelwertkurve und der x-Achse berechnet. Damit wird die Gesamtmenge des Hormons über die Zeit am besten wiedergegeben. Hingegen wird als Bezugslinie der AUC_I eine horizontale Strecke durch den Nüchternwert als Ursprung gewählt. Die AUC_I gibt also die Veränderungen über die Zeit wieder und kann damit auch, bei einer Flächenberechnung unüblich, negative Werte annehmen (Pruessner et al., 2003).

Zudem sollten in Anlehnung an die in Abschnitt 1.3 erwähnte Arbeit von Unger und Kollegen die Quotienten der postprandialen Ghrelinkonzentrationen als Maß für die Stärke des Abfalls bzw. Anstiegs analysiert werden.

Nach dem Kolmogoroff-Smirnov Anpassungstest und visueller Überprüfung der Histogramme verteilen sich die Ghrelinwerte innerhalb der Gruppen nicht normal. Daher wurde zur Signifikanzprüfung der Ergebnisse das Kruskal Wallis Verfahren angewandt. Dieser nicht parametrische Test ordnet die Ghrelinwerte aller Gruppen entsprechend ihrer Größe einem Rang zu. Danach beurteilt er die Rangverteilung innerhalb der Gruppen und berechnet, der zentralen Tendenz entsprechend, einen p-Wert. Nach guter wissenschaftlicher Praxis wurde ein $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant gewertet. Bei signifikanten Ergebnissen wurde anschließend für den paarweisen Vergleich der ebenfalls nicht parametrische Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Wegen der nicht normalverteilten Ergebnisse konnte keine Kovarianzanalyse (ANCOVA) mit Korrektur für Geschlecht, Alter und BMI angewandt werden. Das Kruskal Wallis Verfahren erlaubt diese Korrektur der Ergebnisse nicht.

Für die statistischen Berechnungen wurde die Statistiksoftware SPSS (Version 22) verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Studienkollektiv

Um Unterschiede der Ghrelinspiegel zwischen Gesunden, Patienten mit MSA und PSP zu detektieren wurden 23 Kontrollen, 15 MSA und 13 PSP Patienten untersucht. Von den MSA Patienten hatten zwölf Patienten eine wahrscheinliche, drei eine mögliche MSA Erkrankung. In der PSP Gruppe waren neun mit einer wahrscheinlichen und vier mit einer möglichen PSP Erkrankung.

Das Geschlechterverhältnis der Gruppen war nicht einheitlich. Die Kontrollgruppe setzte sich mehrheitlich aus Frauen zusammen, während in den Patientengruppen mehr Männer waren.

Die PSP Patienten waren signifikant älter als die MSA Patienten ($p = 0,004$) aber auch älter als die Kontrollpersonen ($p = 0,01$).

Der BMI aller Kollektive lag bei 26-29 kg/m² und war damit vergleichbar. Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

In Tab. 3 sind neben den demographischen Daten auch die Resultate der klinischen Skalen zusammengefasst.

Tab. 3: Demographische und klinische Daten des Studienkollektivs

	Kontrollen	MSA Patienten	PSP Patienten
Demographische Daten			
Probandenanzahl	23	15	13
Geschlecht (männlich : weiblich)	9:14	11:4	8:5
Alter in Jahren (MW \pm SD)	63 \pm 9	60 \pm 8	69 \pm 6
BMI (kg/m ² , \pm SD)	26 \pm 4	29 \pm 6	28 \pm 6
Klinische Daten			
Krankheitsdauer in Monaten	-	46 \pm 18	62 \pm 47
Gesamtpunktzahl UPDRS (I,II,III)	2,5 \pm 2,4	53 \pm 14	69 \pm 24
UPDRS III	1,2 \pm 2,1	31 \pm 9,3	41 \pm 15
UMSARS (I,II)	-	42 \pm 12	-
PSPRS (I,II,III,IV,V,VI)	-	-	41 \pm 14
H&Y-Stadium	-	2,8 \pm 0,9	3,2 \pm 1,2
RBDSQ	1,6 \pm 1,5	5,1 \pm 3,2	3,2 \pm 1,8
MMST	29 \pm 1,3	28 \pm 1,4	26 \pm 5,2
PANDA	23 \pm 5,2	19 \pm 5,9	15 \pm 6,8
BDI	4,4 \pm 4,6	15 \pm 11	16 \pm 9,4
FAB	-	-	10 \pm 5,1

3.2 Auswertung der Ghrelinkonzentrationen

3.2.1 Mittelwerte und AUC

In der vorliegenden Arbeit wurden die beiden Derivate der Ghrelingesamtkonzentration, AG und DAG, separat gemessen und analysiert. Wie bei Hormonstudien üblich wurden im ersten Schritt die Mittelwerte sowie das Kurvenflächenintegral beurteilt.

Die Dauer der Testmahlzeit variierte zwischen den Gruppen (Tab. 4). PSP Patienten benötigten signifikant mehr Zeit als die Kontrollen ($p = 0,01$). Im paarweisen Vergleich der anderen Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied.

AG und DAG verhielten sich in den Gruppen sehr ähnlich (Abb. 1 und Abb. 2). Nach dem Nüchternwert ($t = -10$ min) fielen die Spiegel bis 60 min postprandial ab. Bei Patienten mit MSA zeigte sich für DAG bis unmittelbar nach der Testmahlzeit zunächst noch ein leichter Anstieg. Die maximalen AG Konzentrationen wurden in allen drei Gruppen 240 min postprandial erreicht. Selbiges zeigte sich für die maximale DAG Konzentration der Kontrollen. Bei den Patienten stiegen die DAG Spiegel bis 300 min postprandial an (Tab. 4).

Während des gesamten Untersuchungszeitraums waren die Werte der Patienten deskriptiv niedriger als die der Kontrollpersonen. Dieser Unterschied galt im Besonderen für AG.

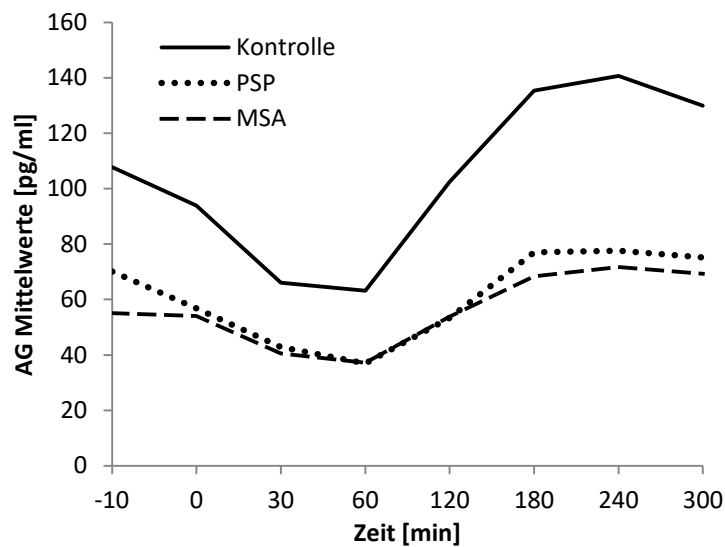


Abb. 1: Mittelwertkurven für acyliertes Ghrelin

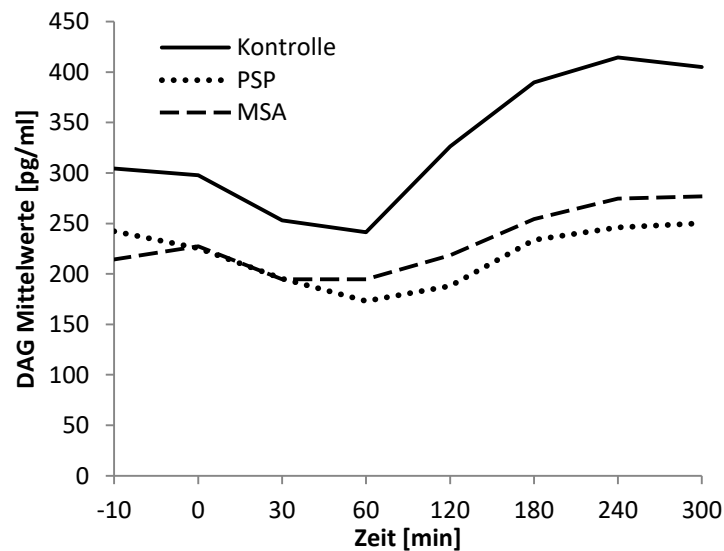


Abb. 2: Mittelwertkurven für desacyliertes Ghrelin

Die Ghrelinkonzentrationen schwankten individuell stark, dies fand seinen Ausdruck in einer hohen Standardabweichung (Tab. 4). Daher wurden die Werte zusätzlich prozentual im Verhältnis zum Nüchternwert jedes einzelnen Probanden betrachtet. Dabei ergaben sich signifikante Unterschiede (Tab. 5 und 6). Im paarweisen Vergleich zeigten sich signifikant niedrigere Werte für AG und DAG 120 min postprandial für PSP Patienten vs. MSA Patienten ($p_{AG120} = 0,01$; $p_{DAG120} = 0,01$) sowie für PSP Patienten vs.

Kontrollen ($p_{AG120} = 0,02$; $p_{DAG120} = 0,01$). Weiterhin lagen 180 min postprandial die Werte für DAG signifikant niedriger für PSP Patienten vs. Kontrollen ($p_{DAG180} = 0,01$) und 240 min postprandial für PSP Patienten vs. Kontrollen ($p_{DAG240} = 0,02$) sowie für PSP Patienten vs. MSA Patienten ($p_{DAG240} = 0,04$).

Zwischen Patienten mit MSA und Kontrollen bestand zu keinem Messzeitpunkt ein signifikanter Unterschied in den Ghrelinkonzentrationen.

Tab. 4: AG und DAG Mittelwerte, Standardabweichung und p-Werte nach Kruskal Wallis (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)

	Kontrollen	MSA Patienten	PSP Patienten	p-Werte
Dauer der Testmahlzeit in Minuten MW \pm SD	9,1 \pm 1,7	10,2 \pm 2,9	15,2 \pm 7,9	0,04*
Acyliertes Ghrelin [pg/ml]				
AG Nüchternwert MW \pm SD	107,7 \pm 85,1	55,1 \pm 40,1	70,1 \pm 73,2	0,11
AG 0 min postprandial MW \pm SD	93,9 \pm 73,6	54,1 \pm 42,7	56,9 \pm 48,0	0,21
AG 30 min postprandial MW \pm SD	66,1 \pm 43,9	40,5 \pm 32,2	42,9 \pm 41,4	0,11
AG 60 min postprandial MW \pm SD	63,2 \pm 43,9	37,2 \pm 26,7	36,9 \pm 35,4	0,08
AG 120 min postprandial MW \pm SD	102,5 \pm 79,5	53,8 \pm 32,3	53,3 \pm 48,8	0,07
AG 180 min postprandial MW \pm SD	135,4 \pm 105,2	68,4 \pm 39,9	77,1 \pm 76,9	0,06
AG 240 min postprandial MW \pm SD	140,6 \pm 111,6	71,7 \pm 39,1	77,5 \pm 80,6	0,09
AG 300 min postprandial MW \pm SD	129,9 \pm 108,1	69,3 \pm 41,8	75,2 \pm 86,2	0,09
Desacyliertes Ghrelin [pg/ml]				
DAG Nüchternwert MW \pm SD	304,3 \pm 223,4	214,3 \pm 135,6	242,2 \pm 160,7	0,47
DAG 0 min postprandial MW \pm SD	297,7 \pm 210,7	227,4 \pm 168,5	225,3 \pm 134,8	0,33
DAG 30 min postprandial MW \pm SD	252,9 \pm 179,6	194,8 \pm 128,5	195,5 \pm 110,4	0,56
DAG 60 min postprandial MW \pm SD	241,4 \pm 176,0	194,7 \pm 140,3	173,1 \pm 102,0	0,50
DAG 120 min postprandial MW \pm SD	326,3 \pm 266,3	218,6 \pm 140,7	188,2 \pm 120,6	0,22
DAG 180 min postprandial MW \pm SD	389,8 \pm 310,6	254,3 \pm 181,8	233,7 \pm 149,9	0,21
DAG 240 min postprandial MW \pm SD	414,5 \pm 338,0	274,7 \pm 179,0	246,0 \pm 167,3	0,25
DAG 300 min postprandial MW \pm SD	405,1 \pm 333,8	276,9 \pm 209,3	250,1 \pm 179,9	0,21

Tab. 5: Prozentuale Verhältnisswerte von AG und DAG zum Nüchternwert. Mittelwerte, Standardabweichung und p-Werte nach Kruskal Wallis (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)

	Kontrollen	MSA Patienten	PSP Patienten	p-Werte
Acyliertes Ghrelin im Verhältnis zum Nüchternwert				
AG Nüchternwert MW \pm SD	100	100	100	-
AG 0 min postprandial MW \pm SD	91,0 \pm 25,4	101,4 \pm 23,2	99,2 \pm 31,4	0,69
AG 30 min postprandial MW \pm SD	68,7 \pm 23,7	77,1 \pm 35,0	63,6 \pm 23,5	0,62
AG 60 min postprandial MW \pm SD	64,6 \pm 20,6	72,1 \pm 35,4	52,2 \pm 14,8	0,27
AG 120 min postprandial MW \pm SD	96,3 \pm 21,6	105,9 \pm 35,3	77,0 \pm 20,5	0,02*
AG 180 min postprandial MW \pm SD	131,3 \pm 32,4	137,9 \pm 52,0	122,2 \pm 40,8	0,64
AG 240 min postprandial MW \pm SD	136,8 \pm 40,5	145,1 \pm 44,3	118,3 \pm 31,1	0,19
AG 300 min postprandial MW \pm SD	123,3 \pm 32,7	139,9 \pm 50,2	114,6 \pm 36,2	0,30
Desacyliertes Ghrelin im Verhältnis zum Nüchternwert				
DAG Nüchternwert MW \pm SD	100	100	100	-
DAG 0 min postprandial MW \pm SD	100,6 \pm 16,1	105,6 \pm 19,8	100,4 \pm 22,4	0,76
DAG 30 min postprandial MW \pm SD	89,2 \pm 18,9	91,0 \pm 16,8	86,6 \pm 16,6	0,78
DAG 60 min postprandial MW \pm SD	81,3 \pm 16,2	90,6 \pm 24,0	80,4 \pm 26,2	0,54
DAG 120 min postprandial MW \pm SD	105,6 \pm 24,7	104,1 \pm 26,2	80,0 \pm 21,9	0,01*
DAG 180 min postprandial MW \pm SD	129,0 \pm 31,6	122,4 \pm 40,1	99,5 \pm 28,1	0,05*
DAG 240 min postprandial MW \pm SD	135,4 \pm 34,2	132,8 \pm 41,3	104,4 \pm 25,9	0,05*
DAG 300 min postprandial MW \pm SD	136,3 \pm 41,4	132,0 \pm 45,2	106,3 \pm 28,1	0,13

Tab. 6: Paarweiser Vergleich (Mann-Whitney-U-Test) der prozentualen Verhältnisswerte von AG und DAG zum Nüchternwert (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)

	Kontrollen vs. PSP	Kontrollen vs. MSA	PSP vs. MSA
AG 120	0,02*	0,33	0,01*
DAG 120	0,01*	0,86	0,01*
DAG 180	0,01*	0,54	0,13
DAG 240	0,02*	1,00	0,04*

Die Fläche unter der Kurve wird in den Abb. 3 bis 6 als Boxplot dargestellt. In dieser Darstellungsform repräsentiert die graue Box die mittleren 50 % der Daten. Sie ist demnach nach oben durch das 75%ige Perzentil und nach unten durch das 25%ige Perzentil begrenzt. Je höher die Box desto größer ist die Streuung der Daten. Der schwarze Strich in der Box steht für den Median. Die Whisker geben den höchsten und niedrigsten Wert wieder, der noch kein Ausreißer ist. Ausreißer sind Werte, die zwischen 1,5-3 fache Boxenhöhe oberhalb des 75 % Perzentils bzw. unterhalb des 25 % Perzentils liegen. Bei extremen Werten beträgt der Abstand mehr als die dreifache Boxenhöhe.

Die AUC_G -Werte (Fläche unter der Kurve in Bezug zur Abszisse) der Patienten für AG lagen bei geringerer Spannbreite über den gesamten Untersuchungszeitraum niedriger als bei den Kontrollen (Abb. 3). Im Kruskal Wallis Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen ($p = 0,05$) (Tab. 7). Im angeschlossenen paarweisen Vergleich mittels Mann-Whitney-U-Test bestand eine signifikant niedrigere AG-Gesamtmenge über den Untersuchungszeitraum für Patienten mit PSP im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Tab. 8).

Die AUC_G Werte von DAG zeigten vergleichbare Spannweiten in allen Gruppen (Abb. 4).

In den Abbildungen 5 und 6 ist der Nettozuwachs der Ghrelinkonzentration über den Untersuchungszeitraum dargestellt (AUC_I). Besonders bei den PSP Patienten kam es im Mittel zu keiner Zunahme der Ghrelinkonzentration über den Untersuchungszeitraum (MW AG $AUC_I = -27,1 \text{ pg/ml} \cdot \text{h}$, MW DAG $AUC_I -49,4 \text{ pg/ml} \cdot \text{h}$). Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand nicht.

In der AUC Analyse fiel eine PSP Patientin durchgehend als positiver Ausreißer auf. Die Diagnose einer möglichen PSP Erkrankung galt als gesichert. Die hohen Werte ließen sich aus

der Anamnese nicht erklären. Ein Ausschluss dieser Patientin aus den Analysen wirkte sich nicht auf die Signifikanz aus.

Tab. 7: Fläche unter der Kurve in Bezug zur Abszisse (AUC_G) und zum Anstieg (AUC_I) (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)

	Kontrollen	MSA Patienten	PSP Patienten	p-Werte
AUC_G [pg/ml*h]				
AG [-10 bis 300 min] MW ± SD	565,5 ± 426,4	284,1 ± 179,5	314,1 ± 298,4	0,05*
DAG [-10 bis 300 min] MW ± SD	1710,7 ± 1365,7	1164,2 ± 804,1	1128,0 ± 664,2	0,16
AUC_I [pg/ml*h]				
AG [-10 bis 300 min] MW ± SD	7,6 ± 127,6	13,2 ± 76,7	-27,1 ± 88,1	0,24
DAG [-10 bis 300 min] MW ± SD	193,1 ± 403,9	98,8 ± 287,2	-49,4 ± 311,1	0,11

Tab. 8: Paarweiser Vergleich (Mann-Whitney-U-Test) für AG AUC_G (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)

	Kontrollen vs. PSP	Kontrollen vs. MSA	PSP vs. MSA
AG AUC_G	0,04*	0,37	0,77

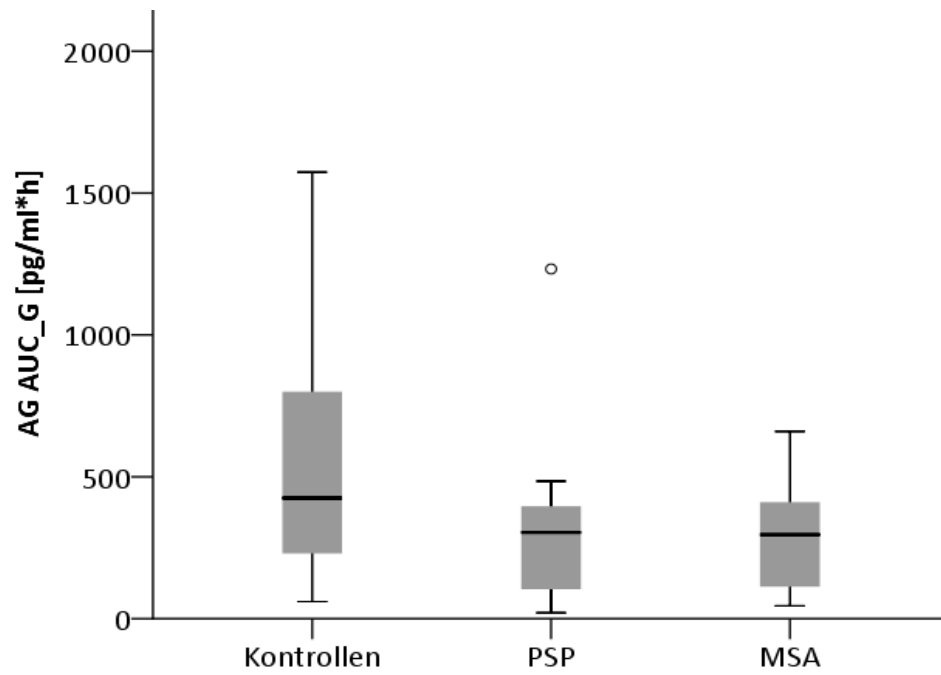


Abb. 3: Area under the curve with respect to the ground (AUC_G) für AG (Extreme Werte sind mit Stern, Ausreißer mit Kreis gekennzeichnet)

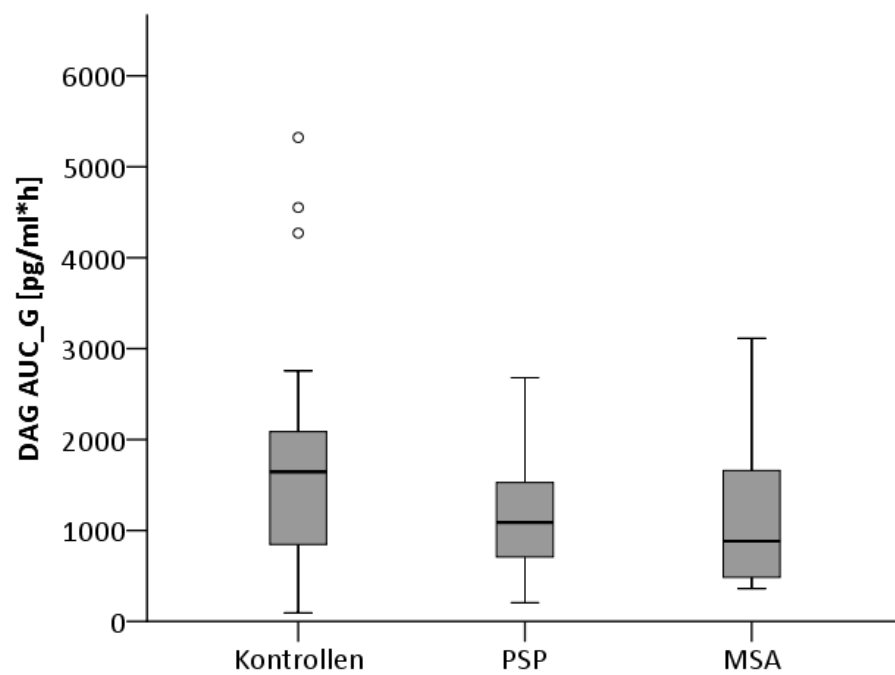


Abb. 4: Area under the curve with respect to the ground (AUC_G) für DAG (Extreme Werte sind mit Stern, Ausreißer mit Kreis gekennzeichnet)

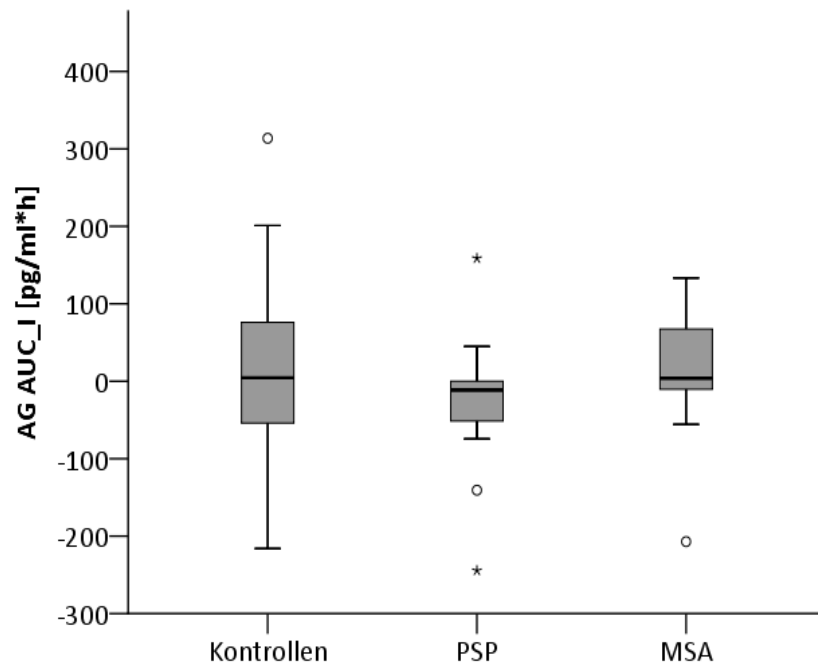


Abb. 5: Area under the curve with respect to increase (AUC_I) für AG (Extreme Werte sind mit Stern, Ausreißer mit Kreis gekennzeichnet)

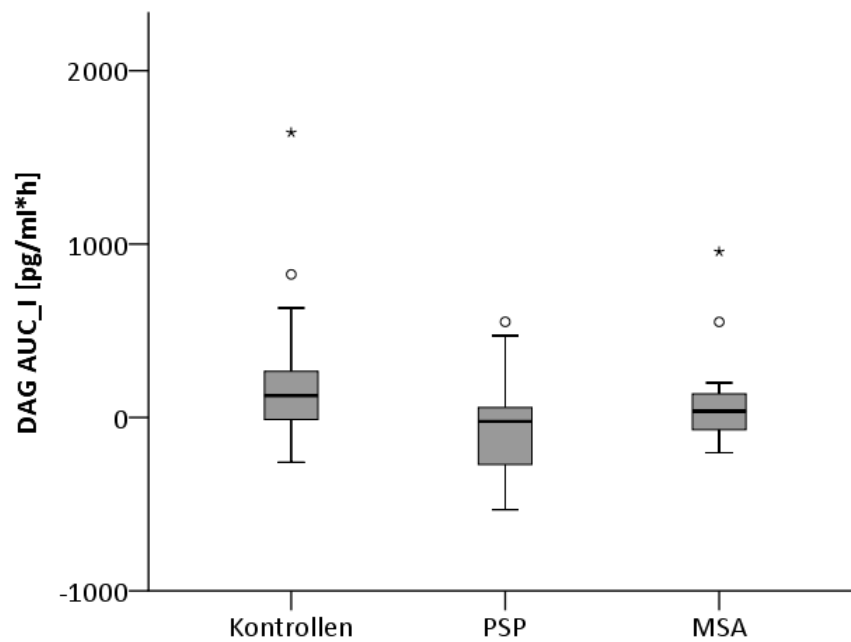


Abb. 6: Area under the curve with respect to increase (AUC_I) für DAG (Extreme Werte sind mit Stern, Ausreißer mit Kreis gekennzeichnet)

3.2.2 Steigungsverhalten

In einer Studie von Unger et al. (2011b) wurde der postprandiale Verlauf der Gesamtghrelinkonzentration untersucht. Ein signifikanter Unterschied im postprandialen Anstiegsverhalten der Gesamtghrelinkonzentration konnte bei Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachgewiesen werden. Der Konzentrationsabfall ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In Anlehnung an diese Arbeit wurde in dieser Studie der postprandiale Verlauf der AG- und DAG-Konzentration bestimmt. Der Konzentrationsabfall berechnete sich aus dem Verhältnis der Konzentration vor der Testmahlzeit zu der Minimalkonzentration 60 min postprandial. Der Anstieg wurde aus der Konzentration am Ende des annähernd linearen Anstiegs 180 min postprandial zur Konzentration 60 min postprandial berechnet. Letzterer ergab deskriptiv niedrigere Quotienten bei den Patientengruppen. Ein signifikanter Unterschied ließ sich aber nicht nachweisen (Tab. 9).

Tab. 9: Ratio Berechnung des postprandialen Abfalls (Wert bei 60 min/Nüchternwert) und Wiederanstiegs (Wert bei 180 min/Wert bei 60 min) der Ghrelinkonzentrationen

	Kontrollen	MSA Patienten	PSP Patienten	p-Werte
RATIO 60 min/Nüchternwert				
Acyliertes Ghrelin MW ± SD	0,65 ± 0,21	0,72 ± 0,35	0,52 ± 0,15	0,27
Desacyliertes Ghrelin MW ± SD	0,81 ± 0,16	0,91 ± 0,24	0,80 ± 0,26	0,54
RATIO 180 min/60 min				
Acyliertes Ghrelin MW ± SD	2,18 ± 0,69	2,12 ± 0,78	2,47 ± 0,83	0,48
Desacyliertes Ghrelin MW ± SD	1,64 ± 0,47	1,38 ± 0,38	1,28 ± 0,29	0,07

Betrachtet man das Verhältnis von DAG zu AG fällt auf, dass in den Patientengruppen in der frühen postprandialen Phase AG im Verhältnis zu DAG niedriger lag als bei den Kontrollen. Dies galt im besonderen für PSP Patienten. Am größten war der Unterschied 60 min postprandial, erreichte jedoch noch kein statistisch signifikantes Niveau ($p = 0,07$) (Abb. 7).

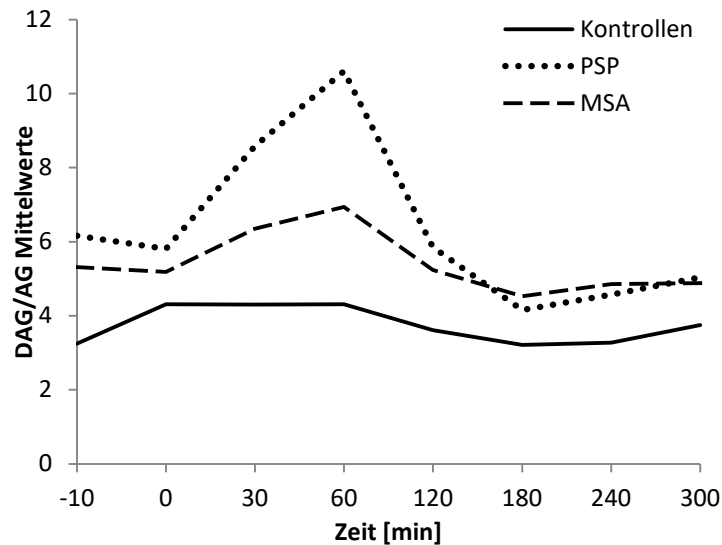


Abb. 7: DAG/AG Verhältnis

Für das Verhältnis von AG zu der Gesamtghrelinkonzentration, dessen Kurvenverlauf Abb. 8 zeigt, bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

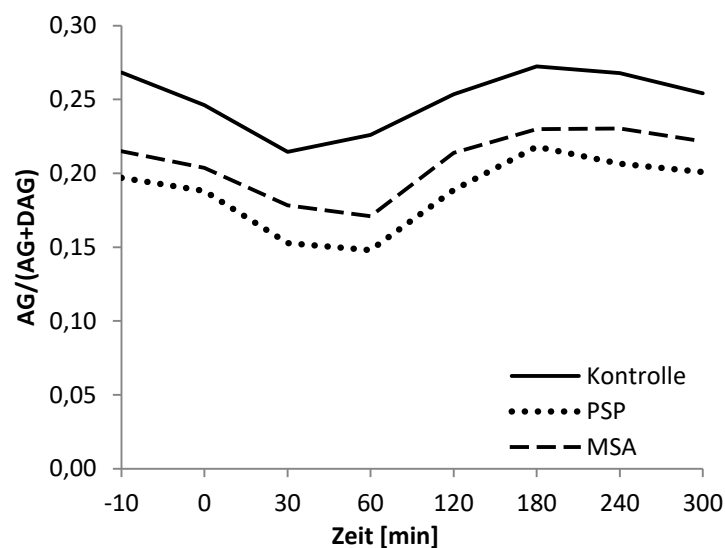


Abb. 8: Graphische Darstellung der Quotienten des AGs zu der Gesamtkonzentration ($AG/(AG+DAG)$)

3.2.3 Ghrelinkonzentration: das Geschlecht als möglicher Bias?

Das Geschlechterverhältnis war zwischen den Gruppen nicht ausgeglichen.

Im Vergleich der Ghrelinkonzentration der männlichen Probanden miteinander näherten sich die Kurvenverläufe an (Abb. 9). Für die Kurvenverläufe der weiblichen Probanden galt dies nicht, allerdings repräsentierten die Kurven der Patientinnen nur wenige Probanden (MSA: n = 4; PSP: n = 5).

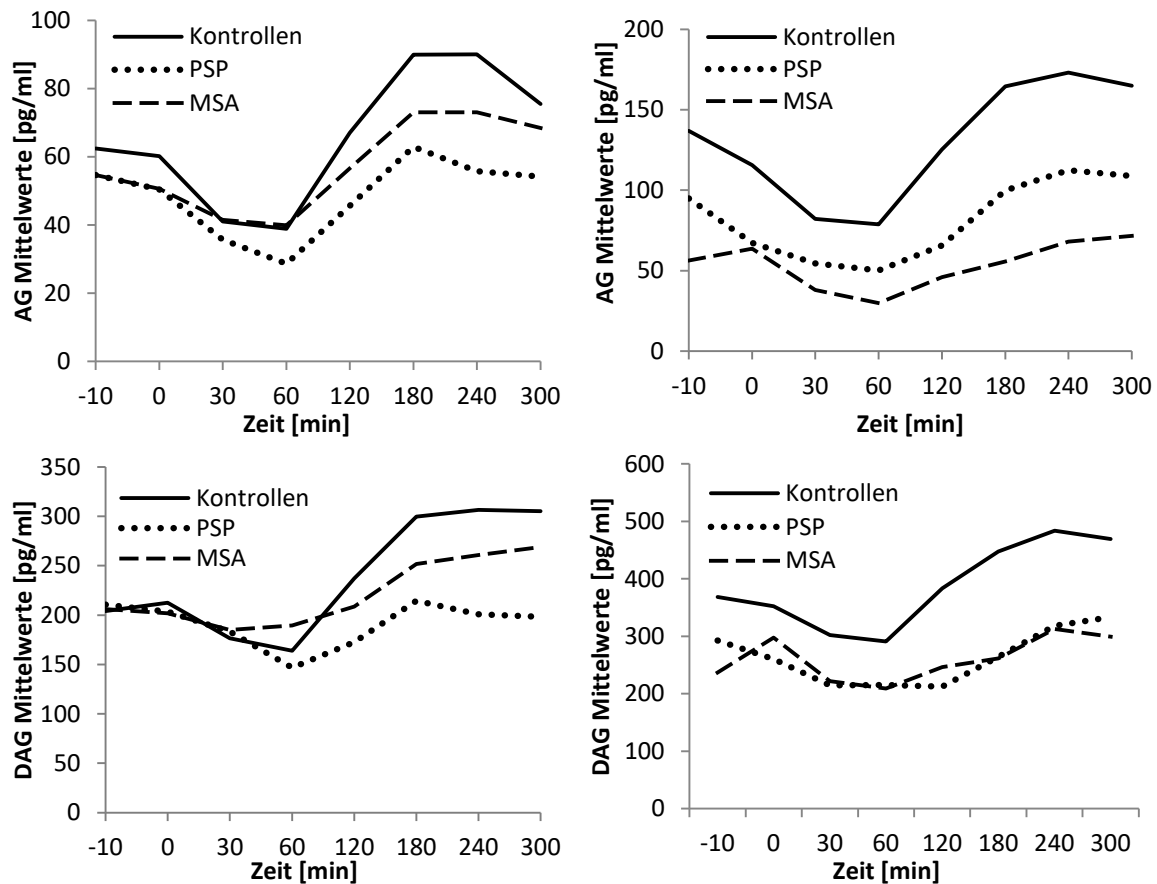


Abb. 9: Mittelwertkurven für AG und DAG der männlichen (linke Spalte) und weiblichen Probanden (rechte Spalte)

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig das postprandiale Verhalten der Ghrelinkonzentrationen bei Patienten mit MSA und PSP im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen untersucht. Hierzu wurden zu acht definierten Messzeitpunkten vor und nach einer standardisierten Testmahlzeit die beiden Zustandsformen, AG und DAG, bestimmt.

Trotz deskriptiv niedrigerer postprandialer Konzentrationen in beiden Patientengruppen ließ sich ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte nicht nachweisen. Es bestand allerdings bei den PSP Patienten im Vergleich zu den Kontrollen eine niedrigere AG-Gesamtmenge über den Untersuchungszeitraum. Setzte man die postprandialen Ghrelinkonzentrationen in ein prozentuales Verhältnis zum individuellen Nüchternwert, wiesen die PSP Patienten zu einigen Zeitpunkten signifikant niedrigere Ghrelinwerte auf.

4.1 Studienkollektiv und Methodik

Die Probandenrekrutierung erfolgte über die neurologische Universitätsklinik Marburg, vornehmlich aus den Ambulanzen und Stationen. Wegen der Seltenheit der Erkrankung, der raschen Progredienz mit Dysphagie, der gehäuften Einnahme von trizyklischen Antidepressiva und der hohen Prävalenz von Diabetes mellitus mit steigendem Alter gestaltete sich die Rekrutierung als schwierig. Die geplanten 20 Probanden für die Patientengruppen konnten innerhalb von 2 ¼ Jahren nicht erreicht werden.

Die demographischen Parameter unterschieden sich zwischen den Patientengruppen. Die Altersverteilung differierte z.B. signifikant. Entsprechend konnte keine gematchte Kontrollgruppe gebildet werden. Eine Normalverteilung der Ghrelinkonzentrationen konnte auf Grund der Gruppengröße nicht erreicht werden. Daher musste für die Analyse der Kruskal Wallis Test angewendet werden. Dieser weist gegenüber der ANOVA eine niedrigere Power auf und ermöglicht außerdem keine Korrektur für demographische Parameter wie Alter, Geschlecht und BMI. Ein möglicher konsekutiver Einfluss dieser Faktoren auf die Ghrelinspiegel ist daher zu diskutieren.

In die Kontrollgruppe wurden überwiegend Partner der Patienten aufgenommen. Der Männeranteil bei den Patienten war höher als bei den Kontrollen, bei denen das weibliche Geschlecht überwog (Tab. 3). Bei Frauen sind die Ghrelinspiegel tendenziell höher als bei Männern. Östrogen wird als potenzieller Einflussfaktor angesehen (Sakata and Sakai, 2010).

Die Mittelwertkurven der Gruppen näherten sich an, wenn lediglich die Daten der männlichen Probanden verwendet wurden. Interessanterweise ließ sich dies nicht für die Kurvenverläufe der weiblichen Probanden zeigen (Abb. 9). Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass auf Grund dieses Missverhältnisses die niedrigeren Ghrelinkonzentrationen bei den Patienten überschätzt werden.

Mit steigendem Alter nehmen die Ghrelinwerte ab. In der Gruppe der PSP Patienten lag der Altersdurchschnitt signifikant über dem der MSA Patienten und der Kontrollen (Kapitel 3.1). Es war kein Proband jünger als 44 Jahre und keiner älter als 76 Jahre. Nach der bisherigen Studienlage ist nicht davon auszugehen, dass diese Altersdifferenz einen signifikanten Einfluss auf die AG-Konzentration hatte (Nass et al., 2014).

Ghrelin korreliert negativ mit einem steigenden Adipositasgrad nach WHO Definition. Ein signifikanter Unterschied konnte jedoch nur zwischen Untergewichtigen ($BMI < 18,5$) und deutlich Übergewichtigen ($BMI > 30$) nachgewiesen werden (Ozkan et al., 2013). In der vorliegenden Arbeit waren die meisten Probanden präadipös (Tab. 3). Die BMI-Werte waren zwischen den 3 Gruppen vergleichbar, d.h. der Einfluss auf die Ghrelinwerte sollte vernachlässigbar sein.

Vier Patienten hatten eine substituierte Hypothyreose (Thyroxin 50-100 µg täglich). Alle Erkrankten wurden seit Jahren behandelt oder wiesen innerhalb des letzten Jahres TSH-Spiegel im Normbereich auf. Die Studienergebnisse bezüglich der Ghrelinspiegel bei Patienten mit Schilddrüsenunterfunktion sind widersprüchlich. Einige deuten auf erhöhte Ghrelinspiegel in hypothyreoter Stoffwechsellage bei Menschen hin, die sich allerdings nach Erreichen der Euthyreose wieder normalisieren. Andere konnten keinen Zusammenhang zwischen der Ghrelinkonzentration und einer Hypothyreose nachweisen (Gjedde et al., 2008, Canpolat et al., 2013). Ruchala untersuchte die individuellen Schwankungen der Ghrelinkonzentrationen im hyper-, eu- und hypothyreoten Zustand. Für den Einzelnen konnte kein signifikanter Unterschied der Ghrelinkonzentration in der ausgeglichenen und hypothyreoten Stoffwechsellage nachgewiesen werden. Bei hyperthyreoter Stoffwechsellage sind die Ghrelinkonzentrationen niedriger (Ruchala et al., 2013). Da im Studienprotokoll keine Bestimmung des TSH-Wertes vorgesehen war, kann abschließend bei keinem Studienteilnehmer ausgeschlossen werden, ob Störungen des Schilddrüsenmetabolismus vorlagen, die eventuell einen Einfluss auf die

Ghrelinkonzentrationen hatten. Innerhalb ihrer Gruppe verhielten sich die Ghrelinspiegel der jeweiligen Patienten nicht auffällig.

Das Studienkonzept repräsentiert einen im Beginn flexiblen, im Ablauf jedoch starren Versuchsaufbau, der leicht reproduzierbar ist. Der zeitliche Beginn der Untersuchung trägt der individuellen Rhythmik der Ghrelinsekretion Rechnung, die sich an den gewohnten Essenszeiten orientiert. In Antizipation einer Mahlzeit steigen die Ghrelinspiegel an (Natalucci et al., 2005). Demnach würden bei einem zu frühem Untersuchungsbeginn im Vergleich zu niedrige Ghrelinkonzentrationen gemessen. Der Studienbeginn orientierte sich an der üblichen Frühstückszeit der Probanden und lag zwischen 7.00 Uhr und 9.00 Uhr. Die Testmahlzeit bestand aus Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen. Die Zusammensetzung war bestmöglich standardisiert. Für die Einnahme der Testmahlzeit wurden 10 min einkalkuliert. Einige Patienten waren auf Grund der Schwere ihrer Erkrankung nicht in der Lage, diesen Zeitrahmen einzuhalten. Insbesondere die PSP Patienten benötigten mehr Zeit, die Dauer unterschied sich jedoch nicht signifikant von der der MSA Patienten. Voraussichtlich hatte dies keinen Effekt auf das postprandiale Ghrelinverhalten, was eine Arbeit von Shah und Kollegen belegt, die Ghrelin 180 min nach einer Testmahlzeit von 10 min und 20 minütiger Dauer untersuchten und keinen Konzentrationsunterschied feststellen konnten (Shah et al., 2015).

Der Untersuchungszeitraum umfasste in etwa den zeitlichen Abstand zwischen Frühstück und Mittagessen. Es ist folglich davon auszugehen, dass die postprandialen Ghrelinkonzentrationen in Gänze erhoben worden sind und etwaige Unterschiede detektiert wurden.

Nach der Testmahlzeit nahmen die Probanden bis zum Untersuchungsende keine weiteren Speisen oder Getränke zu sich. Bei ein paar Patienten konnte auf Grund des bestehenden Parkinson-Syndroms nicht auf eine Medikamenteneinnahme während der Studie verzichtet werden. Die Medikamente wurden mit einem kleinen Schluck Wasser eingenommen. In der vorangegangenen Studie von Unger et al. konnten keine unterschiedlichen Ghrelinwerte bei Parkinson Patienten mit und ohne Therapie nachgewiesen werden (Unger et al., 2011b). Dies wurde auch in zwei weiteren Untersuchungen bestätigt (Corcuff et al., 2006, Novakova et al., 2011). Das Trinken von Wasser hat ebenfalls keinen Einfluss auf die Ghrelinsekretion (Shiia et al., 2002).

Wegen der Häufigkeit der Blutentnahmen wurden diese über eine liegende Venenverweilkanüle am Unterarm vorgenommen. Einige der gewonnenen Proben stellten sich nach dem Zentrifugieren als hämolytisch heraus. In hämolytischen Proben kann die AG-Konzentration zu niedrig gemessen werden, wofür die, bei der Hämolyse aus den Erythrozyten freigesetzten Peroxidasen verantwortlich sind, da sie mit der im ELISA verwendeten Acetylcholinesterase interagieren können. Desweiteren können die lysierten Erythrozyten die Antigen-Antikörper Interaktion des ELISA stören (Trivedi et al., 2012). Zur Prävention der Hämolyse wurde bei den entsprechenden Probanden daraufhin die Venenverweilkanülen mit NaCl gespült und anschließend eine EDTA-Monovette Blut entnommen und verworfen. Bei den entsprechenden Proben könnten jedoch zu niedrige Konzentrationen gemessen worden sein.

Die rasche präanalytische Verarbeitung der Blutproben ist essentiell, da AG im Blut rasch von Esterasen abgebaut wird. Der Michaelis-Menten-Theorie zufolge würde dies besonders bei hohen AG-Spiegeln zu einem beschleunigten Abbau führen. Die Halbwertszeit von AG beim Menschen beträgt in etwa 240 min (De Vriese et al., 2004).

Die präanalytische Verarbeitung umfasst eine schnelle Abkühlung auf 4°C, die Verdünnung der Probe, eine pH-Senkung sowie eine Proteaseinhibition (Blatnik and Soderstrom, 2011). All diese Schritte erfolgten innerhalb von 30 min nach der Probenentnahme, damit ist eine Vergleichbarkeit zwischen den Probanden gegeben.

Die bisherigen Kenntnisse zu Ghrelinkonzentrationen im Blut sind hauptsächlich mit Radioimmunoassays (RIA) generiert worden. Dieses Verfahren birgt den Nachteil, dass lediglich AG und die Ghrelingesamtkonzentration gemessen werden können. Beim RIA wird nur ein Antikörper eingesetzt, der an einem Epitop auf dem Ghrelinmolekül bindet. Mit dieser Methode werden auch Ghrelinfragmente gemessen, was zur Überschätzung der physiologischen Ghrelinkonzentrationen führt (Prudom et al., 2010).

Mit zunehmendem Kenntnisstand über die physiologischen Aufgaben des ehemals als inaktiv bezeichneten DAG, aber auch im Sinne einer guten wissenschaftlichen Praxis ist es nötig, korrekte AG und DAG Messergebnisse anzustreben. Daher kam in dieser Arbeit ein Sandwich-ELISA Verfahren zur Anwendung. Da sich auch bei gleichem Assay, je nach Analyselabor, bereits große Streubreiten ergeben, wurde in dieser Arbeit die Analyse von derselben Medizinisch-Technischen-Laboratoriumsassistentin durchgeführt, um eine Vergleichbarkeit zwischen den Gruppen zu gewährleisten.

4.2 Ergebnisse

Unger und Kollegen konnten zeigen, dass der postprandiale Wiederanstieg von Ghrelin bei Patienten mit M. Parkinson im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant reduziert ist (Unger et al., 2011b). Sie führten diesen Unterschied auf einen Neuronenverlust des Nucleus dorsalis nervi vagi zurück und brachten Ghrelin als potentiellen Biomarker bei Morbus Parkinson ins Gespräch. In dieser Arbeit wurden die prä- und postprandialen Ghrelinkonzentrationen bei den atypischen Parkinson-Syndromen MSA und PSP untersucht. Dabei konnte eine signifikant niedrigere AG-Gesamtmenge über den Untersuchungszeitraum bei PSP Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen gezeigt werden. Auffallend waren die großen Standardabweichungen innerhalb der Gruppen, die nicht zuletzt auch der kleinen Gruppengröße geschuldet sein dürften. Trotzdem muss auch in Betracht gezogen werden, dass sich das Ghrelinniveau interindividuell stark unterscheidet, was nicht für das postprandiale Anstiegsverhalten gelten muss. Diesem Ansatz folgend wurde der Nüchternwert als 100% festgelegt und die folgenden Konzentrationen in Relation dazu betrachtet. Dadurch konnten signifikant niedrigere AG- und DAG-Werte bei PSP-Patienten spät postprandial gezeigt werden (Tab. 6). Die Werte der Kontrollen und MSA-Patienten unterschieden sich nicht. Interessanterweise hatten die PSP-Patienten zum Teil auch signifikant niedrigere Ghrelinwerte als die MSA-Patienten. Dieses Ergebnis lässt sich auch nicht durch die inhomogenen Geschlechterverhältnisse in den Gruppen erklären, da in der PSP Gruppe mehr weibliche Probanden als in der MSA Gruppe waren und damit, wenn überhaupt tendenziell höhere Konzentrationen zu erwarten gewesen wären.

Bei atypischen Parkinson-Syndromen wurden bisher in einer Studie die AG- und DAG-Konzentration nach einer zwölfstündigen, nächtlichen Fastenzeit analysiert. Die Nüchternwerte unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht, allerdings konnte ein signifikanter Unterschied für den Quotienten $AG/(AG+DAG)$ sowohl zwischen MSA Patienten und Kontrollen als auch zwischen MSA Patienten und Patienten mit anderen atypischen Parkinson-Syndromen gezeigt werden. Dass die Kontrollgruppe aus größtenteils nicht gesunden Probanden (Z. n. cerebralem Infarkt, Normaldruckhydrozephalus, cervicaler Spondylosis und Polyneuropathie) und die Gruppe der Patienten mit atypischem Parkinson-Syndrom zusätzlich zu den PSP-Patienten auch Patienten mit Corticobasaler Degeneration enthielt, kann kritisch angemerkt werden (Ozawa et al., 2013). Eine Reproduktion des Ergebnisses gelang in dieser Arbeit nicht (Abb. 8). Es bestand zu keinem

Untersuchungszeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen MSA Patienten und Kontrollen.

Die PSP unterscheidet sich pathophysiologisch von der MSA und dem Morbus Parkinson, die zu den Alpha-Synukleinopathien gehören. Eine Gastroparese ist sowohl für den Morbus Parkinson, als auch für die MSA, im Gegensatz zur PSP, nachgewiesen (Tanaka et al., 2012). Neuropathologisch sind Schädigungen des Nucleus dorsalis nervi vagi bei MSA bekannt, nicht aber bei PSP (Benarroch et al., 2006b).

Die Rolle des Nervus vagus bei der Ghrelinsekretion soll im Folgenden dargelegt werden. Als Indiz für einen Einfluss kann man die Steigerung der Ghrelinkonzentration nach Elektrostimulation des Nervus vagus bei Ratten werten (Gil et al., 2011, Bansal et al., 2012).

Bei der Nahrungsaufnahme laufen physiologische Vorgänge ab, die sich in eine kephale, gastrale und intestinale Phase einteilen lassen. Die kephale Phase wird durch den Anblick, den Geruch und auch den Geschmack der Speise ausgelöst. Aber auch schon die Erwartung, oder der Gedanke an Essen kann sie initiieren (Schmidt, 2000). Die "sham feeding"-Methode (*sham*, engl. Täuschung; *feeding*, engl. Fütterung) simuliert die kephale Phase der Nahrungsaufnahme, indem das Essen zwar in den Mund genommen und gekaut, danach jedoch wieder ausgespuckt wird. Durch diese sensorischen Reize kommt es zu einer Stimulation des Nervus vagus. Heath zeigte so auch beim Menschen den stimulierenden Einfluss des cholinergen Nervus vagus auf die Ghrelinsekretion (Heath et al., 2004). Letzterer konnte auch biochemisch durch eine Zunahme der Ghrelinkonzentration nach Acetylcholingabe nachgewiesen werden (Shrestha et al., 2009). Allerdings konnte beim Menschen zwar eine Abnahme des Nüchternghrelinspiegels nach Gabe von Atropin gezeigt werden, eine Zunahme durch die Gabe von Pyridostigmin, einem Cholinesteraseinhibitor, ließ sich jedoch nicht bestätigen (Maier et al., 2004). In einem Versuch von Schüssler et al. konnten diese zeigen, dass auch die Betrachtung von Bildern mit Nahrungsmitteln zu einem Anstieg der Ghrelinkonzentration im Blut führte, was ebenfalls für den Einfluss des Nervus vagus in der präprandialen Phase auf die Ghrelinsekretion sprechen könnte (Schussler et al., 2012). Da bei Morbus Parkinson und MSA eine Degeneration des Nucleus dorsalis nervi vagi beschrieben wird, ist der Einfluss einer Vagotomie auf Ghrelin für diese Arbeit von besonderem Interesse. Dieser Frage ist in diversen Studien nachgegangen worden, allerdings mit widersprüchlichen Ergebnissen. Lee wies bei Ratten eine 3-fache Erhöhung der Plasmaghrelinkonzentration 14 Tage nach Vagotomie nach. Allerdings wurden keine

Angaben zum Zeitpunkt der Blutabnahme gemacht, sodass eine Einordnung der Resultate schwierig erscheint (Lee et al., 2002). Hosoda und Kollegen wiesen einen Abfall der Ghrelinkonzentration innerhalb des ersten Tages nach einer Vagotomie nach. Erst danach kam es zu einem sukzessiven Anstieg der Konzentration (Hosoda and Kangawa, 2008). Williams et al. konnten keinen Einfluss einer Vagotomie, sowohl auf die Nüchtern- als auch die postprandialen Ghrelinwerte nachweisen (Williams et al., 2003). Auch Erlanson-Albertsson und Kollegen bestätigten die normalen AG- und Gesamtghrelinwerte zwei Wochen nach einer Vagotomie (Erlanson-Albertsson and Lindqvist, 2008). Abschließend lässt sich festhalten, dass Evidenz für eine Beteiligung des Nervus vagus in der kephalen Phase besteht. Die postprandialen Ghrelinkonzentrationen scheinen vom Nervus vagus jedoch nicht beeinflusst zu werden.

Für einen kephalen Einfluss auf die Ghrelinspiegel spricht auch die Beschreibung einer circadianen Rhythmik, die teilweise zu Zeiten einer erwarteten Nahrungsaufnahme Konzentrationsspitzen zeigt (Cummings et al., 2001a, Natalucci et al., 2005). Dabei korreliert Ghrelin nicht mit den Glucosespiegeln oder diversen Hormonen, wie Growth Hormone, Insulin und Glucagon (Natalucci et al., 2005). Auch der Bautyp der ghrelinproduzierenden P/D1 Zellen im Magen, als sogenannte „closed-type“ Zellen ohne Kontakt zum Magenlumen, spricht für eine basolaterale Kontrolle entweder neural oder hormonell (Sakata and Sakai, 2010). Es ist wahrscheinlich, dass die basale und postprandiale Sekretion durch unterschiedliche Mechanismen gesteuert werden und auch unterschiedlich stark von diversen Faktoren (Alter, Gewicht, Hormonsituation) beeinflusst werden. Der Grund für die beobachtete gestörte Ghrelinsekretion bei PSP ist unklar. Die Probanden der PSP Gruppe waren älter als die in der MSA- und Kontrollgruppe, obwohl ein Einfluss nach bisheriger Studienlage unwahrscheinlich erscheint (Nass, 2014). Auch die längere Einnahmezeit der Testmahlzeit dürfte keine Rolle spielen (siehe Kap. 4.1). Zusammenfassend bleibt daher als Vermutung, dass die gestörte Ghrelinsekretion bei PSP als Hinweis auf eine autonome Funktionsstörung zu werten ist. Autonome Funktionsstörungen bei PSP wurden vereinzelt berichtet. Die Beobachtungen umfassen eine unzureichende Lichtadaptation der Pupillen an Dunkelheit (Schmidt et al., 2007) oder wie jüngst publiziert auch eine autonome Blasenfunktionsstörung (Yamamoto et al., 2016). Eine orthostatische Hypotension ist bei PSP selten, ebenso eine verminderte Herzfrequenzvariabilität bei forcierter Atmung (van Dijk et al., 1991, Gutrecht, 1992, Schmidt et al., 2008). Studien über die gastrointestinale Motilität

bei PSP Patienten liegen bis dato nicht vor. Es besteht lediglich ein anamnestisch erhobener Hinweis auf eine vermehrte Obstipationsneigung (Schmidt et al., 2008). Der dorsale Vagus Kern unterliegt bei PSP keiner Neurodegeneration, jedoch sind autonome Hirnstammzentren, wie der Nucleus raphe obscurus, der Nucleus raphe magnus, der Nucleus gigantocellularis und die intermediäre Formatio reticularis von der Tauopathie betroffen. Es könnte daher sein, dass die vorliegenden Daten auf eine autonome Funktionsstörung bei Patienten mit PSP hinweisen. Dies würde für Diagnostik und Verlaufskontrolle bei PSP Patienten eine Überprüfung autonomer Funktionen erfordern mit resultierenden therapeutischen Ansätzen. Gleichzeitig stellt sich die Regulation der Ghrelinsekretion damit wesentlich komplexer dar.

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die signifikant niedrigere AG-Gesamtmenge über den Untersuchungszeitraum sowie die teils signifikant niedrigeren postprandialen Relativwerte für AG und DAG bei Patienten mit PSP waren unerwartete Ergebnisse dieser Arbeit. Insbesondere, da sich teilweise auch signifikante Unterschiede zwischen PSP und MSA Patienten ergaben. Bei der PSP galten autonome Funktionsstörungen bisher eher als Ausschlusskriterium. Die Ergebnisse können als weiteres Indiz für eine autonome Funktionsstörung bei PSP gedeutet werden und sollten eine genauere Erforschung gastrointestinaler Funktionsstörungen bei PSP nach sich ziehen. Leider ist der Sekretionsmechanismus von Ghrelin noch nicht ausreichend verstanden, um eine pathophysiologische Erklärung für die niedrigeren Werte bei Patienten mit PSP geben zu können. Bei der PSP kommt es in einigen autonomen Funktionszentren des Hirnstamms zu einer Neurodegeneration, die in diesem Ausmaß auch in fortgeschrittenen Stadien der Alzheimer Erkrankung zu finden sind. Daher wäre es interessant auch diese Erkrankung in weitere Studien einzubeziehen.

Unger und Kollegen stellten Ghrelin als möglichen Biomarker für Morbus Parkinson zur Diskussion. Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten deuten, unabhängig von den teils signifikanten Unterschieden zwischen PSP und MSA, auf eine große individuelle Streubreite von Ghrelin hin. Die Ghrelinspiegel werden von diversen Faktoren wie Gewicht, Geschlecht, verschiedenen Stoffwechselerkrankungen und auch Medikamenten beeinflusst. In der klinischen Praxis dürfte sich Ghrelin als Laborparameter für die differentialdiagnostische Einordnung verschiedener Parkinson-Syndrome

höchstwahrscheinlich nicht eignen. Auch im Rahmen klinischer Studien müssen daher sehr hohe Anforderungen an die Probandenrekrutierung gestellt werden.

Ghrelin ist wegen der nachgewiesenen protektiven Eigenschaften auf Neurone der Substantia nigra pars compacta im Toxin-Model der Parkinsonkrankheit ein wichtiger Forschungsgegenstand neurodegenerativer Erkrankungen. Auch die prokinetische Wirkung auf die Magenmotilität macht Ghrelin im therapeutischen Sinne interessant. In diesem Zusammenhang ist abschließend noch kurz Rikkunshito, ein Medikament der traditionellen japanischen Kampo-Medizin, zu erwähnen. Rikkunshito erhöht die AG-Spiegel (Hayakawa et al., 2014). Außerdem beschleunigt es die Wiederaktivierung des Ghrelinrezeptors und verhindert die Desacylierung von AG (Hattori, 2010, Tominaga et al., 2011). Ob Rikkunshito zu einem Anstieg der Ghrelinkonzentrationen bei Patienten mit Parkinson-Syndrom führt und eventuell zu einer Verbesserung nicht-motorischer Symptome, wäre in weiteren Studien zu klären.

5 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tab. 1: Diagnosekriterien der MSA nach den zweiten Konsensuskriterien (Gilman et al., 2008).....	7
Tab. 2: Diagnosekriterien der Progressiven Supranukleären Blickparese nach Litvan 1996 (Litvan et al., 1996a)	12
Tab. 3: Demographische und klinische Daten des Studienkollektivs	28
Tab. 4: AG und DAG Mittelwerte, Standardabweichung und p-Werte nach Kruskal Wallis (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)	32
Tab. 5: Prozentuale Verhältniswerte von AG und DAG zum Nüchternwert. Mittelwerte, Standardabweichung und p-Werte nach Kruskal Wallis (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)	33
Tab. 6: Paarweiser Vergleich (Mann-Whitney-U-Test) der prozentualen Verhältniswerte von AG und DAG zum Nüchternwert (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$).....	34
Tab. 7: Fläche unter der Kurve in Bezug zur Abszisse (AUC_G) und zum Anstieg (AUC_I) (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)	35
Tab. 8: Paarweiser Vergleich (Mann-Whitney-U-Test) für AG AUC_G (Signifikanzniveau * = $p \leq 0,05$)	35
Tab. 9: Ratio Berechnung des postprandialen Abfalls (Wert bei 60 min/Nüchternwert) und Wiederanstiegs (Wert bei 180 min/Wert bei 60 min) der Ghrelinkonzentrationen	38
Abb. 1: Mittelwertkurven für acyliertes Ghrelin	30
Abb. 2: Mittelwertkurven für desacyliertes Ghrelin	30
Abb. 3: Area under the curve with respect to the ground (AUC_G) für AG	36
Abb. 4: Area under the curve with respect to the ground (AUC_G) für DAG.....	36
Abb. 5: Area under the curve with respect to increase (AUC_I) für AG	37
Abb. 6: Area under the curve with respect to increase (AUC_I) für DAG	37
Abb. 7: DAG/AG Verhältnis	39
Abb. 8: Graphische Darstellung der Quotienten des AGs zu der Gesamtkonzentration ($AG/(AG+DAG)$)	39
Abb. 9: Mittelwertkurven für AG und DAG der männlichen (linke Spalte) und weiblichen Probanden (rechte Spalte)	40

6 Zusammenfassung – Abstract

Ghrelin ist ein vorwiegend im Magen synthetisiertes Peptidhormon, welches vielfältige Funktionen im Organismus erfüllt. Besonders interessant sind neuroprotektive Eigenschaften des Hormons, die für dopaminerge Neurone in der Substantia nigra pars compacta im MPTP-Mausmodell nachgewiesen werden konnten (Andrews et al., 2009). Dieses Erkenntnis macht Ghrelin für die Parkinsonforschung interessant. In einer Studie von Unger et al. (2011) konnte eine gestörte postprandiale Ghrelinsekretion bei Parkinson Patienten gezeigt werden. Aufbauend darauf wurde in dieser Arbeit das postprandiale Ghrelin-Sekretionsverhalten bei den atypischen Parkinson-Syndromen PSP und MSA untersucht. Die MSA ist neuropathologisch, wie der Morbus Parkinson eine Alpha-Synukleinopathie, während die PSP neuropathologisch zu den Tauopathien gehört.

Es wurden die Serumkonzentrationen der beiden Zustandsformen, AG und DAG, bei PSP- (n=13) und MSA-Patienten (n=15) getrennt analysiert und mit einer Kontrollgruppe (n=23) verglichen. Ebenfalls wurden die AUC_G , die AUC_I und die Quotienten des Ghrelinabfalls und -anstiegs (Ratio 60 min/Nüchternwert und Ratio 180 min/60 min) berechnet. Wegen der kleinen Gruppengrößen wurden auch die Verhältniswerte zum jeweiligen Nüchternwert analysiert.

Die Untersuchung ergab eine signifikant niedrigere Gesamtmenge von AG (AUC_G) bei Patienten mit PSP im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Auch die Relativwerte (Verhältnis zum Nüchternwert) von PSP-Patienten waren zu verschiedenen Zeitpunkten signifikant niedriger als die der Kontrollen und teilweise auch niedriger als die der MSA-Patienten. MSA Patienten und Kontrollen unterschieden sich nicht signifikant.

Die genauen Regulationsmechanismen der Ghrelinsekretion sind nicht vollständig verstanden. Eine neurohumorale Kontrolle erscheint jedoch nach bisherigem Kenntnisstand wahrscheinlich. Der Einfluss des Nervus vagus ist besonders für die kephale Phase der Nahrungsaufnahme nachgewiesen, aber nicht für die postprandiale Regulation. Bei der PSP gehören autonome Funktionsstörungen bisher nicht zu den etablierten Symptomen, allerdings mehren sich Studien, die autonome Funktionsstörungen bei PSP Patienten nachweisen konnten. Anders als bei der MSA ist der Vagus Kern bei der PSP nicht von einer Neurodegeneration betroffen. Es bestehen jedoch pathologische Veränderungen in einigen autonomen Zentren des Hirnstamms, die zur Erklärung autonomer Funktionsstörungen bei

PSP herangezogen werden und bei der offenbar komplexen Regulation der Ghrelinspiegel involviert sein könnten.

Abstract

The gastrointestinal peptide hormone ghrelin, besides its numerous functions in the human body, has been proven to be neuroprotective in a rodent toxin model of Parkinson's disease. Therefore ghrelin is of great interest in Parkinson's research, especially after Unger et al. (2011) could show a reduced postprandial ghrelin response in Parkinson's disease patients which has been explained by dorsal vagal nucleus neurodegeneration. On the basis of these results the postprandial ghrelin secretion of desacyl- and acylghrelin in patients with atypical parkinsonism, MSA and PSP, was studied. Neuropathologically MSA is, like Parkinson's disease considered as a synucleinopathy, whereas PSP in comparison is a tauopathy. 13 PSP- and 15 MSA-patients were compared to 23 healthy controls. Decrease and increase of AG and DAG (ratio 60 min/baseline; ratio 180 min/60 min) as well as AUC_G and AUC_I were calculated. Because of the small group sizes relative AG and DAG values to the basic ghrelin concentration were analysed as well.

The overall acylghrelin concentration (AUC_G) in PSP was lower compared to controls. Relative values in PSP patients (in regard to the basic ghrelin concentration) showed a significant difference to both of the other groups. MSA patients did not show any significant differences compared to control.

Regulation of ghrelin secretion is not well understood yet. A neurohumoral impact is possible. The Vagal nerve is likely influencing ghrelin secretion during cephalic-phase of nutrition. Postprandial changes were considered to be regulated differently. There is growing evidence for autonomic dysfunction in PSP. Neurodegeneration of the dorsal vagal nucleus is not seen in PSP. Though, several autonomic regions of the brainstem are included in the neuropathologic spread of the disease. This may explain a disturbed ghrelin-secretion, as a result of autonomic dysfunction in PSP and point towards a much more complex regulation of ghrelin-concentration.

7 Literaturverzeichnis

- Ahmed Z, Asi YT, Sailer A, Lees AJ, Houlden H, Revesz T, Holton JL (2012) The neuropathology, pathophysiology and genetics of multiple system atrophy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 38:4-24.
- Andrews ZB (2011) The extra-hypothalamic actions of ghrelin on neuronal function. *Trends Neurosci* 34:31-40.
- Andrews ZB, Erion D, Beiler R, Liu ZW, Abizaid A, Zigman J, Elsworth JD, Savitt JM, DiMarchi R, Tschoep M, Roth RH, Gao XB, Horvath TL (2009) Ghrelin promotes and protects nigrostriatal dopamine function via a UCP2-dependent mitochondrial mechanism. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:14057-14065.
- Andrews ZB, Liu ZW, Wallingford N, Erion DM, Borok E, Friedman JM, Tschöp MH, Shanabrough M, Cline G, Shulman GI, Coppola A, Gao XB, Horvath TL, Diano S (2008a) UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature* 454:846-851.
- Andrews ZB, Liu ZW, Wallingford N, Erion DM, Borok E, Friedman JM, Tschöp MH, Shanabrough M, Cline G, Shulman GI, Coppola A, Gao XB, Horvath TL, Diano S (2008b) UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature* 454:846-851.
- Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K (2001) Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4753-4758.
- Asi YT, Simpson JE, Heath PR, Wharton SB, Lees AJ, Revesz T, Houlden H, Holton JL (2014) Alpha-synuclein mRNA expression in oligodendrocytes in MSA. *Glia* 62:964-970.
- Attems J, Jellinger KA (2008) The dorsal motor nucleus of the vagus is not an obligatory trigger site of Parkinson's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 34:466-467.
- Bansal V, Ryu SY, Lopez N, Alexan S, Krzyzaniak M, Eliceiri B, Baird A, Coimbra R (2012) Vagal stimulation modulates inflammation through a ghrelin mediated mechanism in traumatic brain injury. *Inflammation* 35:214-220.
- Beck B, Pourie G (2013) Ghrelin, neuropeptide Y, and other feeding-regulatory peptides active in the hippocampus: role in learning and memory. *Nutrition reviews* 71:541-561.
- Benarroch EE, Schmeichel AM, Sandroni P, Low PA, Parisi JE (2006a) Involvement of vagal autonomic nuclei in multiple system atrophy and Lewy body disease. *Neurology* 66:378-383.
- Benarroch EE, Schmeichel AM, Sandroni P, Low PA, Parisi JE (2006b) Involvement of vagal autonomic nuclei in multiple system atrophy and Lewy body disease. *Neurology* 66:378-383.
- Benke T, Karner E, Delazer M (2013) FAB-D: German version of the Frontal Assessment Battery. *J Neurol* 260:2066-2072.
- Bjornsdottir A, Gudmundsson G, Blondal H, Olafsson E (2013) Incidence and prevalence of multiple system atrophy: a nationwide study in Iceland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:136-140.
- Blackburn DJ, Bafadhel L, Randall M, Harkness KA (2013) Cognitive screening in the acute stroke setting. *Age Ageing* 42:113-116.
- Blatnik M, Soderstrom CI (2011) A practical guide for the stabilization of acylghrelin in human blood collections. *Clinical endocrinology* 74:325-331.
- Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA (1997) Incidence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy in Olmsted County, Minnesota, 1976 to 1990. *Neurology* 49:1284-1288.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging* 24:197-211.
- Canpolat AG, Kav T, Sivri B, Yildiz BO (2013) Effects of L-thyroxine on gastric motility and ghrelin in subclinical hypothyroidism: a prospective study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98:E1775-1779.

- Chou KL, Forman MS, Trojanowski JQ, Hurtig HI, Baltuch GH (2004) Subthalamic nucleus deep brain stimulation in a patient with levodopa-responsive multiple system atrophy. Case report. *Journal of neurosurgery* 100:553-556.
- Colosimo C, Bak TH, Bologna M, Berardelli A (2013) Fifty years of progressive supranuclear palsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.
- Corcuff JB, Krim E, Tison F, Foubert-Sanier A, Guehl D, Burbaud P, Cuny E, Baillet L, Gin H, Rigalleau V, Perlempoine C (2006) Subthalamic nucleus stimulation in patients with Parkinson's disease does not increase serum ghrelin levels. *The British journal of nutrition* 95:1028-1029.
- Cotter C, Armytage T, Crimmins D (2010) The use of zolpidem in the treatment of progressive supranuclear palsy. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 17:385-386.
- Cubo E, Stebbins GT, Golbe LI, Nieves A, Leurgans S, Goetz CG, Kompoliti K (2000a) Application of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale in progressive supranuclear palsy: factor analysis of the motor scale. *Mov Disord* 15:276-279.
- Cubo E, Stebbins GT, Golbe LI, Nieves A, Leurgans S, Goetz CG, Kompoliti K (2000b) Application of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale in progressive supranuclear palsy: factor analysis of the motor scale. *Mov Disord* 15:276-279.
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS (2001a) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50:1714-1719.
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS (2001b) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50:1714-1719.
- Dash SK (2013) Zolpidem in progressive supranuclear palsy. *Case reports in neurological medicine* 2013:250865.
- Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M (2002) The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 123:1120-1128.
- Davenport AP, Bonner TI, Foord SM, Harmar AJ, Neubig RR, Pin JP, Spedding M, Kojima M, Kangawa K (2005) International Union of Pharmacology. LVI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacological reviews* 57:541-546.
- De Vriese C, Gregoire F, Lema-Kisoka R, Waelbroeck M, Robberecht P, Delporte C (2004) Ghrelin degradation by serum and tissue homogenates: identification of the cleavage sites. *Endocrinology* 145:4997-5005.
- Del Tredici K, Braak H (2012) Spinal cord lesions in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 124:643-664.
- Di Pancrazio L, Bellomo RG, Franciotti R, Iodice P, Galati V, D'Andreagiovanni A, Bifulchetti S, Thomas A, Onofri M, Bonanni L, Saggini R (2013) Combined rehabilitation program for postural instability in progressive supranuclear palsy. *NeuroRehabilitation* 32:855-860.
- Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B (2000) The FAB: a Frontal Assessment Battery at bedside. *Neurology* 55:1621-1626.
- Erlanson-Albertsson C, Lindqvist A (2008) Vagotomy and accompanying pyloroplasty down-regulates ghrelin mRNA but does not affect ghrelin secretion. *Regulatory peptides* 151:14-18.
- Fahn S, Elton R, Committee aMotUD (1987) The Unified Parkinson's Disease Rating Scale. vol. 2 *Recent developments in Parkinson's disease*.
- Fellner L, Jellinger KA, Wenning GK, Stefanova N (2011) Glial dysfunction in the pathogenesis of α -synucleinopathies: emerging concepts. *Acta Neuropathol* 121:675-693.
- Ferrini F, Salio C, Lossi L, Merighi A (2009) Ghrelin in central neurons. *Curr Neuroparmacol* 7:37-49.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189-198.
- Fuchs J, Nilsson C, Kachergus J, Munz M, Larsson EM, Schule B, Langston JW, Middleton FA, Ross OA, Hulihan M, Gasser T, Farrer MJ (2007) Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology* 68:916-922.

- Geser F, Wenning GK, Seppi K, Stampfer-Kountchev M, Scherfler C, Sawires M, Frick C, Ndayisaba JP, Ulmer H, Pellecchia MT, Barone P, Kim HT, Hooker J, Quinn NP, Cardozo A, Tolosa E, Abele M, Klockgether T, Østergaard K, Dupont E, Schimke N, Eggert KM, Oertel W, Djaldetti R, Poewe W, Group EMS (2006) Progression of multiple system atrophy (MSA): a prospective natural history study by the European MSA Study Group (EMSA SG). *Mov Disord* 21:179-186.
- Gil K, Bugajski A, Thor P (2011) Electrical vagus nerve stimulation decreases food consumption and weight gain in rats fed a high-fat diet. *J Physiol Pharmacol* 62:637-646.
- Gilman S, Wenning GK, Low PA, Brooks DJ, Mathias CJ, Trojanowski JQ, Wood NW, Colosimo C, Dürr A, Fowler CJ, Kaufmann H, Klockgether T, Lees A, Poewe W, Quinn N, Revesz T, Robertson D, Sandroni P, Seppi K, Vidailhet M (2008) Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology* 71:670-676.
- Gjedde S, Vestergaard ET, Gormsen LC, Riis AL, Rungby J, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO (2008) Serum ghrelin levels are increased in hypothyroid patients and become normalized by L-thyroxine treatment. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 93:2277-2280.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M (2002) The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 87:2988.
- Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, Giladi N, Holloway RG, Moore CG, Wenning GK, Yahr MD, Seidl L (2004) Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. *Mov Disord* 19:1020-1028.
- Golbe LI, Ohman-Strickland PA (2007) A clinical rating scale for progressive supranuclear palsy. *Brain* 130:1552-1565.
- Goodyear S, Arasaradnam RP, Quraishi N, Mottershead M, Nwokolo CU (2010) Acylated and des acyl ghrelin in human portal and systemic circulations. *Mol Biol Rep* 37:3697-3701.
- Graham JG, Oppenheimer DR (1969) Orthostatic hypotension and nicotine sensitivity in a case of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 32:28-34.
- Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Knierman MD, Jin Z, Witcher DR, Luo S, Onyia JE, Hale JE (2008) Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:6320-6325.
- Gutrecht JA (1992) Autonomic cardiovascular reflexes in progressive supranuclear palsy. *J Auton Nerv Syst* 39:29-35.
- Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, Shimohata M, Terajima K, Onodera O, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Hirasawa M, Mizuno Y, Ogata K, Goto J, Kanazawa I, Nishizawa M, Tsuji S (2007a) Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol* 64:545-551.
- Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, Shimohata M, Terajima K, Onodera O, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Hirasawa M, Mizuno Y, Ogata K, Goto J, Kanazawa I, Nishizawa M, Tsuji S (2007b) Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol* 64:545-551.
- Hattori T (2010) Rikkunshito and ghrelin. *International journal of peptides* 2010.
- Hauw JJ, Daniel SE, Dickson D, Horoupian DS, Jellinger K, Lantos PL, McKee A, Tabaton M, Litvan I (1994) Preliminary NINDS neuropathologic criteria for Steele-Richardson-Olszewski syndrome (progressive supranuclear palsy). *Neurology* 44:2015-2019.
- Hayakawa M, Ono Y, Wada T, Yanagida Y, Sawamura A, Takeda H, Gando S (2014) Effects of Rikkunshito (traditional Japanese medicine) on enteral feeding and the plasma ghrelin level in critically ill patients: a pilot study. *Journal of intensive care* 2:53.
- Heath RB, Jones R, Frayn KN, Robertson MD (2004) Vagal stimulation exaggerates the inhibitory ghrelin response to oral fat in humans. *The Journal of endocrinology* 180:273-281.
- Heppner KM, Chaudhary N, Muller TD, Kirchner H, Habegger KM, Ottaway N, Smiley DL, Dimarchi R, Hofmann SM, Woods SC, Sivertsen B, Holst B, Pfluger PT, Perez-Tilve D, Tschöp MH (2012) Acylation type determines ghrelin's effects on energy homeostasis in rodents. *Endocrinology* 153:4687-4695.
- Hoehn M, Yahr M (1967) Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*.

- Höglinger GU, Melhem NM, Dickson DW, Sleiman PM, Wang LS, Klei L, Rademakers R, de Silva R, Litvan I, Riley DE, van Swieten JC, Heutink P, Wszolek ZK, Uitti RJ, Vandrovcova J, Hurtig HI, Gross RG, Maetzler W, Goldwurm S, Tolosa E, Borroni B, Pastor P, Cantwell LB, Han MR, Dillman A, van der Brug MP, Gibbs JR, Cookson MR, Hernandez DG, Singleton AB, Farrer MJ, Yu CE, Golbe LI, Revesz T, Hardy J, Lees AJ, Devlin B, Hakonarson H, Müller U, Schellenberg GD, Group PGS (2011) Identification of common variants influencing risk of the tauopathy progressive supranuclear palsy. *Nat Genet* 43:699-705.
- Hosoda H, Kangawa K (2008) The autonomic nervous system regulates gastric ghrelin secretion in rats. *Regulatory peptides* 146:12-18.
- Jellinger KA (2014) Neuropathology of multiple system atrophy: new thoughts about pathogenesis. *Mov Disord* 29:1720-1741.
- Jiang H, Li LJ, Wang J, Xie JX (2008) Ghrelin antagonizes MPTP-induced neurotoxicity to the dopaminergic neurons in mouse substantia nigra. *Experimental neurology* 212:532-537.
- Kalaitzakis ME, Graeber MB, Gentleman SM, Pearce RK (2008) The dorsal motor nucleus of the vagus is not an obligatory trigger site of Parkinson's disease: a critical analysis of alpha-synuclein staging. *Neuropathol Appl Neurobiol* 34:284-295.
- Kalbe E, Calabrese P, Kohn N, Hilker R, Riedel O, Wittchen HU, Dodel R, Otto J, Ebersbach G, Kessler J (2008) Screening for cognitive deficits in Parkinson's disease with the Parkinson neuropsychometric dementia assessment (PANDA) instrument. *Parkinsonism Relat Disord* 14:93-101.
- Kaufmann H, Freeman R, Biaggioni I, Low P, Pedder S, Hewitt LA, Mauney J, Feirtag M, Mathias CJ, Investigators NOH (2014) Droxidopa for neurogenic orthostatic hypotension: a randomized, placebo-controlled, phase 3 trial. *Neurology* 83:328-335.
- Kisos H, Pukaß K, Ben-Hur T, Richter-Landsberg C, Sharon R (2012) Increased neuronal α -synuclein pathology associates with its accumulation in oligodendrocytes in mice modeling α -synucleinopathies. *PLoS One* 7:e46817.
- Kobylecki C, Jones M, Thompson JC, Richardson AM, Neary D, Mann DM, Snowden JS, Gerhard A (2015) Cognitive-behavioural features of progressive supranuclear palsy syndrome overlap with frontotemporal dementia. *J Neurol*.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656-660.
- Kojima M, Kangawa K (2005) Ghrelin: structure and function. *Physiological reviews* 85:495-522.
- Kragh CL, Lund LB, Febbraro F, Hansen HD, Gai WP, El-Agnaf O, Richter-Landsberg C, Jensen PH (2009) Alpha-synuclein aggregation and Ser-129 phosphorylation-dependent cell death in oligodendroglial cells. *J Biol Chem* 284:10211-10222.
- Kuhner C, Burger C, Keller F, Hautzinger M (2007) [Reliability and validity of the Revised Beck Depression Inventory (BDI-II). Results from German samples]. *Nervenarzt* 78:651-656.
- Kulisevsky J, Pagonabarraga J (2009) Cognitive impairment in Parkinson's disease: tools for diagnosis and assessment. *Mov Disord* 24:1103-1110.
- Lacquaniti A, Donato V, Chirico V, Buemi A, Buemi M (2011) Obestatin: an interesting but controversial gut hormone. *Ann Nutr Metab* 59:193-199.
- Lannuzel A, Höglinger GU, Verhaeghe S, Gire L, Belson S, Escobar-Khondiker M, Poullain P, Oertel WH, Hirsch EC, Dubois B, Ruberg M (2007) Atypical parkinsonism in Guadeloupe: a common risk factor for two closely related phenotypes? *Brain* 130:816-827.
- Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH, Jr. (2002) Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 143:185-190.
- Lim CT, Kola B, Grossman A, Korbonits M (2011) The expression of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) in human tissues. *Endocr J* 58:707-710.
- Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Goetz CG, Golbe LI, Grafman J, Growdon JH, Hallett M, Jankovic J, Quinn NP, Tolosa E, Zee DS (1996a) Clinical research criteria for the

- diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology* 47:1-9.
- Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Goetz CG, Golbe LI, Grafman J, Growdon JH, Hallett M, Jankovic J, Quinn NP, Tolosa E, Zee DS (1996b) Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology* 47:1-9.
- Litvan I, Bhatia KP, Burn DJ, Goetz CG, Lang AE, McKeith I, Quinn N, Sethi KD, Shults C, Wenning GK, Committee MDSSI (2003) Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for Parkinsonian disorders. *Mov Disord* 18:467-486.
- Lorentz WJ, Scanlan JM, Borson S (2002) Brief screening tests for dementia. *Can J Psychiatry* 47:723-733.
- Maier C, Schaller G, Buranyi B, Nowotny P, Geyer G, Wolzt M, Luger A (2004) The cholinergic system controls ghrelin release and ghrelin-induced growth hormone release in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89:4729-4733.
- Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, Kubo M, Shimozaawa A, Akiyama H, Hasegawa M (2014) Pathological alpha-synuclein propagates through neural networks. *Acta neuropathologica communications* 2:88.
- Mequinion M, Langlet F, Zgheib S, Dickson S, Dehouck B, Chauveau C, Viltart O (2013) Ghrelin: central and peripheral implications in anorexia nervosa. *Frontiers in endocrinology* 4:15.
- Miller DW, Johnson JM, Solano SM, Hollingsworth ZR, Standaert DG, Young AB (2005) Absence of alpha-synuclein mRNA expression in normal and multiple system atrophy oligodendroglia. *J Neural Transm* 112:1613-1624.
- Muller J, Wenning GK, Jellinger K, McKee A, Poewe W, Litvan I (2000) Progression of Hoehn and Yahr stages in Parkinsonian disorders: a clinicopathologic study. *Neurology* 55:888-891.
- Nass R, Farhy LS, Liu J, Pezzoli SS, Johnson ML, Gaylinn BD, Thorner MO (2014) Age-dependent decline in acyl-ghrelin concentrations and reduced association of acyl-ghrelin and growth hormone in healthy older adults. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99:602-608.
- Natalucci G, Riedl S, Gleiss A, Zidek T, Frisch H (2005) Spontaneous 24-h ghrelin secretion pattern in fasting subjects: maintenance of a meal-related pattern. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 152:845-850.
- Novakova L, Haluzik M, Jech R, Urgosik D, Ruzicka F, Ruzicka E (2011) Hormonal regulators of food intake and weight gain in Parkinson's disease after subthalamic nucleus stimulation. *Neuro endocrinology letters* 32:437-441.
- O'Sullivan SS, Massey LA, Williams DR, Silveira-Moriyama L, Kempster PA, Holton JL, Revesz T, Lees AJ (2008) Clinical outcomes of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy. *Brain* 131:1362-1372.
- Osaki Y, Ben-Shlomo Y, Lees AJ, Wenning GK, Quinn NP (2009) A validation exercise on the new consensus criteria for multiple system atrophy. *Mov Disord* 24:2272-2276.
- Ozawa T, Tokunaga J, Arakawa M, Ishikawa A, Takeuchi R, Mezaki N, Miura T, Sakai N, Hokari M, Takeshima A, Utsumi K, Kondo T, Yokoseki A, Nishizawa M (2013) Abnormal ghrelin secretion contributes to gastrointestinal symptoms in multiple system atrophy patients. *J Neurol* 260:2073-2077.
- Ozkan Y, Timurkan ES, Aydin S, Sahin I, Timurkan M, Citil C, Kalayci M, Yilmaz M, Aksoy A, Catak Z (2013) Acylated and desacylated ghrelin, preptin, leptin, and nesfatin-1 Peptide changes related to the body mass index. *International journal of endocrinology* 2013:236085.
- Palma JA, Fernandez-Cordon C, Coon EA, Low PA, Miglis MG, Jaradeh S, Bhaumik AK, Dayalu P, Urrestarazu E, Iriarte J, Biaggioni I, Kaufmann H (2015) Prevalence of REM sleep behavior disorder in multiple system atrophy: a multicenter study and meta-analysis. *Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society*.

- Pan-Montojo F, Schwarz M, Winkler C, Arnhold M, O'Sullivan GA, Pal A, Said J, Marsico G, Verbavatz JM, Rodrigo-Angulo M, Gille G, Funk RH, Reichmann H (2012) Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice. *Scientific reports* 2:898.
- Papp MI, Kahn JE, Lantos PL (1989) Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome). *J Neurol Sci* 94:79-100.
- Pemberton CJ, Richards AM (2008) Biochemistry of ghrelin precursor peptides. *Vitam Horm* 77:13-30.
- Perello M, Dickson SL (2015) Ghrelin signalling on food reward: a salient link between the gut and the mesolimbic system. *Journal of neuroendocrinology* 27:424-434.
- Prudom C, Liu J, Patrie J, Gaylinn BD, Foster-Schubert KE, Cummings DE, Thorner MO, Geysen HM (2010) Comparison of competitive radioimmunoassays and two-site sandwich assays for the measurement and interpretation of plasma ghrelin levels. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 95:2351-2358.
- Pruessner JC, Kirschbaum C, Meinlschmid G, Hellhammer DH (2003) Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology* 28:916-931.
- Prusiner SB, Woerman AL, Mordes DA, Watts JC, Rampersaud R, Berry DB, Patel S, Oehler A, Lowe JK, Kravitz SN, Geschwind DH, Glidden DV, Halliday GM, Middleton LT, Gentleman SM, Grinberg LT, Giles K (2015) Evidence for alpha-synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:E5308-5317.
- Rajrutt AH, Uitti RJ, Fenton ME, George D (1997) Amantadine effectiveness in multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy. *Parkinsonism & related disorders* 3:211-214.
- Respondek GD, S.; Steinmeyer, L.; Oertel, W. H.; Höglinger, G. U. (2010) Differenzialdiagnosen der Parkinson Krankheit: Aktuelle Konsensuskriterien und Ausblicke. *Fortschritte der Neurologie Psychiatrie* 87:S8-S15.
- Reyes JF, Rey NL, Bousset L, Melki R, Brundin P, Angot E (2014) Alpha-synuclein transfers from neurons to oligodendrocytes. *Glia* 62:387-398.
- Rigamonti AE, Pincelli AI, Corra B, Viarengo R, Bonomo SM, Galimberti D, Scacchi M, Scarpini E, Cavagnini F, Muller EE (2002) Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol* 175:R1-5.
- Ross OA, Vilariño-Güell C, Wszolek ZK, Farrer MJ, Dickson DW (2010) Reply to: SNCA variants are associated with increased risk of multiple system atrophy. *Ann Neurol* 67:414-415.
- Ruchala M, Gurgul E, Stangierski A, Wrotkowska E, Moczko J (2013) Individual plasma ghrelin changes in the same patients in hyperthyroid, hypothyroid and euthyroid state. *Peptides*.
- Sailer A, Scholz SW, Nalls MA, Schulte C, Federoff M, Price TR, Lees A, Ross OA, Dickson DW, Mok K, Mencacci NE, Schottlaender L, Chelban V, Ling H, O'Sullivan SS, Wood NW, Traynor BJ, Ferrucci L, Federoff HJ, Mhyre TR, Morris HR, Deuschl G, Quinn N, Widner H, Albanese A, Infante J, Bhatia KP, Poewe W, Oertel W, Höglinger GU, Wullner U, Goldwurm S, Pellecchia MT, Ferreira J, Tolosa E, Bloem BR, Rascol O, Meissner WG, Hardy JA, Revesz T, Holton JL, Gasser T, Wenning GK, Singleton AB, Houlden H, European Multiple System Atrophy Study G, the UKMSASG (2016) A genome-wide association study in multiple system atrophy. *Neurology* 87:1591-1598.
- Sakakibara R, Odaka T, Uchiyama T, Liu R, Asahina M, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Yamanishi T, Hattori T (2004) Colonic transit time, sphincter EMG, and rectoanal videomanometry in multiple system atrophy. *Mov Disord* 19:924-929.
- Sakata I, Sakai T (2010) Ghrelin cells in the gastrointestinal tract. *International journal of peptides* 2010.
- Sato T, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M (2012) Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem* 151:119-128.

- Schmidt C, Herting B, Prieur S, Junghanns S, Schweitzer K, Reichmann H, Berg D, Ziemssen T (2008) Autonomic dysfunction in patients with progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 23:2083-2089.
- Schmidt RFT, Gerhard; Lang, Florian (2000) *Physiologie des Menschen*: Springer.
- Scholz SW, Houlden H, Schulte C, Sharma M, Li A, Berg D, Melchers A, Paudel R, Gibbs JR, Simon-Sanchez J, Paisan-Ruiz C, Bras J, Ding J, Chen H, Traynor BJ, Arepalli S, Zonozi RR, Revesz T, Holton J, Wood N, Lees A, Oertel W, Wüllner U, Goldwurm S, Pellecchia MT, Illig T, Riess O, Fernandez HH, Rodriguez RL, Okun MS, Poewe W, Wenning GK, Hardy JA, Singleton AB, Del Sorbo F, Schneider S, Bhatia KP, Gasser T (2009) SNCA variants are associated with increased risk for multiple system atrophy. *Ann Neurol* 65:610-614.
- Schussler P, Kluge M, Yassouridis A, Dresler M, Uhr M, Steiger A (2012) Ghrelin levels increase after pictures showing food. *Obesity* 20:1212-1217.
- Shah M, Crisp K, Adams-Huet B, Dart L, Bouza B, Franklin B, Phillips M (2015) The effect of eating speed at breakfast on appetite hormone responses and daily food consumption. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research* 63:22-28.
- Shannon KM, Keshavarzian A, Mutlu E, Dodiya HB, Daian D, Jaglin JA, Kordower JH (2012) Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. *Mov Disord* 27:709-715.
- Shi L, Bian X, Qu Z, Ma Z, Zhou Y, Wang K, Jiang H, Xie J (2013) Peptide hormone ghrelin enhances neuronal excitability by inhibition of Kv7/KCNQ channels. *Nature communications* 4:1435.
- Shiia T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S (2002) Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 87:240-244.
- Shrestha YB, Wickwire K, Giraudo SQ (2009) Direct effects of nutrients, acetylcholine, CCK, and insulin on ghrelin release from the isolated stomachs of rats. *Peptides* 30:1187-1191.
- Smit AA, Wieling W, Fujimura J, Denq JC, Opfer-Gehrking TL, Akarriou M, Karemaker JM, Low PA (2004) Use of lower abdominal compression to combat orthostatic hypotension in patients with autonomic dysfunction. *Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society* 14:167-175.
- Song YJ, Lundvig DM, Huang Y, Gai WP, Blumbergs PC, Hojrup P, Otzen D, Halliday GM, Jensen PH (2007) p25alpha relocates in oligodendroglia from myelin to cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy. *The American journal of pathology* 171:1291-1303.
- Staffen W, Mair A, Unterrainer J, Trinka E, Ladurner G (2000) Measuring the progression of idiopathic Parkinson's disease with [123I] beta-CIT SPECT. *J Neural Transm* 107:543-552.
- Stamelou M, Reuss A, Pilatus U, Magerkurth J, Niklowitz P, Eggert KM, Krisp A, Menke T, Schade-Brittinger C, Oertel WH, Hoglinger GU (2008) Short-term effects of coenzyme Q10 in progressive supranuclear palsy: a randomized, placebo-controlled trial. *Mov Disord* 23:942-949.
- Stanford PM, Halliday GM, Brooks WS, Kwok JB, Storey CE, Creasey H, Morris JG, Fulham MJ, Schofield PR (2000) Progressive supranuclear palsy pathology caused by a novel silent mutation in exon 10 of the tau gene: expansion of the disease phenotype caused by tau gene mutations. *Brain* 123 (Pt 5):880-893.
- Steele JC, Richardson JC, Olszewski J (1964) Progressive Supranuclear Palsy. A Heterogeneous Degeneration Involving the Brain Stem, Basal Ganglia and Cerebellum with Vertical Gaze and Pseudobulbar Palsy, Nuchal Dystonia and Dementia. *Arch Neurol* 10:333-359.
- Steiger A, Dresler M, Schussler P, Kluge M (2011) Ghrelin in mental health, sleep, memory. *Mol Cell Endocrinol* 340:88-96.
- Stiasny-Kolster K, Mayer G, Schafer S, Moller JC, Heinzel-Gutenbrunner M, Oertel WH (2007) The REM sleep behavior disorder screening questionnaire--a new diagnostic instrument. *Mov Disord* 22:2386-2393.

- Su X, Maguire-Zeiss KA, Giuliano R, Prifti L, Venkatesh K, Federoff HJ (2008) Synuclein activates microglia in a model of Parkinson's disease. *Neurobiology of aging* 29:1690-1701.
- Svensson E, Horvath-Puho E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, Sorensen HT (2015) Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 78:522-529.
- Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Delpoort C, Coulie B, Meulemans A, Janssens J, Peeters T (2006) Influence of ghrelin on interdigestive gastrointestinal motility in humans. *Gut* 55:327-333.
- Tanaka Y, Kato T, Nishida H, Yamada M, Koumura A, Sakurai T, Hayashi Y, Kimura A, Hozumi I, Araki H, Murase M, Nagaki M, Moriwaki H, Inuzuka T (2012) Is there delayed gastric emptying in patients with multiple system atrophy? An analysis using the (13)C-acetate breath test. *J Neurol* 259:1448-1452.
- Thomaides T, Karapanayiotides T, Zoukos Y, Haeropoulos C, Kerezoudi E, Demacopoulos N, Floodas G, Papageorgiou E, Armakola F, Thomopoulos Y, Zaloni I (2005) Gastric emptying after semi-solid food in multiple system atrophy and Parkinson disease. *J Neurol* 252:1055-1059.
- Tison F, Yekhelef F, Balestre E, Quinn NP, Poewe W, Wenning GK (2013) Parkinsonism in multiple system atrophy: Natural history, severity (UPDRS-III), and disability assessment compared with Parkinson's disease. *Movement Disorders* 17:701-709.
- Tominaga K, Kido T, Ochi M, Sadakane C, Mase A, Okazaki H, Yamagami H, Tanigawa T, Watanabe K, Watanabe T, Fujiwara Y, Oshitani N, Arakawa T (2011) The Traditional Japanese Medicine Rikkunshito Promotes Gastric Emptying via the Antagonistic Action of the 5-HT(3) Receptor Pathway in Rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2011:248481.
- Trivedi A, Babic S, Chanoine JP (2012) Pitfalls in the determination of human acylated ghrelin plasma concentrations using a double antibody enzyme immunometric assay. *Clinical biochemistry* 45:178-180.
- Tschoep M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML (2001) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50:707-709.
- Unger MM, Möller JC, Mankel K, Eggert KM, Bohne K, Bodden M, Stiasny-Kolster K, Kann PH, Mayer G, Tebbe JJ, Oertel WH (2011a) Postprandial ghrelin response is reduced in patients with Parkinson's disease and idiopathic REM sleep behaviour disorder: a peripheral biomarker for early Parkinson's disease? *J Neurol* 258:982-990.
- Unger MM, Möller JC, Mankel K, Eggert KM, Bohne K, Bodden M, Stiasny-Kolster K, Kann PH, Mayer G, Tebbe JJ, Oertel WH (2011b) Postprandial ghrelin response is reduced in patients with Parkinson's disease and idiopathic REM sleep behaviour disorder: a peripheral biomarker for early Parkinson's disease? *J Neurol* 258:982-990.
- van Dijk JG, Haan J, Koenderink M, Roos RA (1991) Autonomic nervous function in progressive supranuclear palsy. *Arch Neurol* 48:1083-1084.
- Wakabayashi K, Yoshimoto M, Tsuji S, Takahashi H (1998) Alpha-synuclein immunoreactivity in glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy. *Neurosci Lett* 249:180-182.
- Warnecke T, Oelenberg S, Teismann I, Hamacher C, Lohmann H, Ringelstein EB, Dzielwas R (2010) Endoscopic characteristics and levodopa responsiveness of swallowing function in progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 25:1239-1245.
- Wenning GK, Geser F, Krismer F, Seppi K, Duerr S, Boesch S, Kollensperger M, Goebel G, Pfeiffer KP, Barone P, Pellecchia MT, Quinn NP, Koukouni V, Fowler CJ, Schrag A, Mathias CJ, Giladi N, Gurevich T, Dupont E, Ostergaard K, Nilsson CF, Widner H, Oertel W, Eggert KM, Albanese A, del Sorbo F, Tolosa E, Cardozo A, Deuschl G, Hellriegel H, Klockgether T, Dodel R, Sampaio C, Coelho M, Djaldetti R, Melamed E, Gasser T, Kamm C, Meco G, Colosimo C, Rascol O, Meissner WG, Tison F, Poewe W, European Multiple System Atrophy Study G (2013) The natural history of multiple system atrophy: a prospective European cohort study. *Lancet Neurol* 12:264-274.
- Wenning GK, Tison F, Seppi K, Sampaio C, Diem A, Yekhelef F, Ghorayeb I, Ory F, Galitzky M, Scaravilli T, Bozi M, Colosimo C, Gilman S, Shults CW, Quinn NP, Rascol O, Poewe W (2004)

- Development and validation of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS). *Mov Disord* 19:1391-1402.
- Wierup N, Björkqvist M, Weström B, Pierzynowski S, Sundler F, Sjölund K (2007) Ghrelin and Motilin Are Cosecreted from a Prominent Endocrine Cell Population in the Small Intestine.
- Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM (2003) Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 144:5184-5187.
- Wullner U, Schmitt I, Kammal M, Kretzschmar HA, Neumann M (2009) Definite multiple system atrophy in a German family. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80:449-450.
- Zampieri C, Di Fabio RP (2009) Improvement of gaze control after balance and eye movement training in patients with progressive supranuclear palsy: a quasi-randomized controlled trial. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 90:263-270.
- Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK (2006) Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *The Journal of comparative neurology* 494:528-548.
- Zoche M., Thomi D., Oertel W.H., Ries V. (2013) Impaired postprandial ghrelin response in patients with multiple system atrophy. DGN Kongress Dresden Poster Nr. 86

8 Anhang

8.1 Publikationen

M. Zoche, D. Thomi, W.H. Oertel, M. Unger, V. Ries

„Impaired postprandial ghrelin response in patients with multiple system atrophy“

DGN Kongress Dresden 2013, Poster Nr. 86

8.2 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen und Herren:

Adamkiewicz, Aumüller, Basler, Baum, Becker, Bien, Brehm, Bünemann, Cetin, Daut, Eilers, Fuchs-Winkelmann, Graz, Grundmann, Grzeschik, Hassan, Hertl, Hilt, Hoyer, Jerrentrup, Kircher, Klose, Kolb-Niemann, Koolman, Lill, Lohoff, Mandreck, Maier, Maisch, Moll, Mueller, Mutters, Oertel, Opitz, Plant, Renz, Richter, Ries, Riße, Röhm, Rosenow, Schäfer, Schmidt, Schofer, Schrader, Sekundo, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Wulf.

8.3 Danksagung

Ich möchte mich bei allen Personen bedanken, die mich während der Umsetzung meiner Doktorarbeit betreut, unterstützt und motiviert haben.

Zu allererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Wolfgang H. Oertel bedanken, der mein Interesse an der Neurologie durch seine inspirierende Begeisterung an dem Fach in seinen Vorlesungen und im persönlichen Gespräch förderte und mich bei meiner Arbeit unterstützte. Außerdem möchte ich die Gelegenheit ergreifen und mich herzlichst für die herausragende Lehre seiner Abteilung bedanken, von der ich profitieren durfte.

Weiterhin danke ich Dr. Marcus Unger für die Unterstützung am Beginn meiner Arbeit. Ich bedanke mich bei Herrn PD Dr. med. Vincent Ries, der bereit war die Betreuung meiner Arbeit zu übernehmen und mir mit Rat und Tat beim Schreiben zur Seite stand.

Für die Unterstützung während der Patientenrekrutierung gilt mein Dank Sabine Lazer. Ich danke Christine Höft für die großartige Arbeit im Labor.

Schließlich möchte ich mich bei allen Probanden bedanken, die trotz schwerer Krankheit und zum Teil weiter Anreise bereit waren an der Untersuchung teilzunehmen. Ich durfte durch Gespräche mit Ihnen und Ihren Angehörigen viel über die Auswirkungen der Erkrankung erfahren.

Letztlich möchte ich noch meinen Eltern, meiner Schwester, meinem Partner und Freunden danken, die mir zur Seite standen und immer ein offenes Ohr für mich hatten.